

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE

No

608

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PRÉSENTÉE PAR

Gabriel, Marie, Michel, François DEBROISE

Né le 18 Avril 1904, à RENNES (Ile-et-Vilaine)

Ancien Interne de l'Hôpital Bon Secours

Contribution à l'étude
DES POINTS ISO-ÉLECTRIQUES
DES PROTIDES DU SÉRUM

Techniques de recherche. Une application

Leurs variations au cours de la grossesse normale

Président : M. BINET, Professeur

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, Rue de l'Ecole-de-Médecine, 23, PARIS (VI^e)

8171

Contribution à l'étude
DU POINT ISO-ELECTRIQUE DES PROTIDES
DU SÉRUM



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PRÉSENTÉE PAR

Gabriel, Marie, Michel, François DEBROISE

Né le 18 Avril 1904, à RENNES (Ile-et-Vilaine)

Ancien Interne de l'Hôpital Bon Secours

Contribution à l'étude DES POINTS ISO-ÉLECTRIQUES DES PROTIDES DU SÉRUM

Techniques de recherche. Une application

Leurs variations au cours de la grossesse normale

Président : M. BINET, Professeur

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, Rue de l'Ecole-de-Médecine, 23, PARIS (VI^e)

I. — Professeurs

	MM.
Anatomie	ROUVIERE.
Physiologie	Léon BINET
Physique médicale.....	STROHL.
Chimie médicale.....	DESGREZ.
Bactériologie	Robert DEBRE
Parasitologie et histoire naturelle médicale.....	BRUMPT.
Pathologie médicale et générale.....	BAUDOUIN.
Pathologie chirurgicale.....	CHEVASSU.
Anatomie pathologique.....	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale.....	TIFFENEAU
Thérapeutique	HARVIER.
Hygiène et médecine préventive.....	TANON.
Médecine légale.....	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....	LAIGNEL.
	LAVASTINE
Pathologie expérimentale et comparée.....	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie.....	Maur. VILLARET
	LOEPER.
	CARNOT.
	CLERC.
Clinique médicale.....	Marcel LABBE.
	LEREBoullet
	NOBECOURT.
Hygiène et clinique de la première enfance.....	H. CLAUDE.
Clinique des maladies des enfants.....	GOUGEROT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale....	GUILLAIN.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	LEMIERRE
Clinique des maladies du système nerveux.....	CUNEO.
Clinique des maladies infectieuses.....	GOSSET.
	GREGOIRE.
Clinique chirurgicale.....	LENORMANT.
	TERRIEN.
	MARION.
Clinique ophtalmologique.....	BRINDEAU.
Clinique urologique.....	COUVELAIRE.
	JEANNIN.
Clinique d'accouchements.....	N.
	OMBREDANNE
Clinique gynécologique.....	RATHERY.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique médicale.....	Pierre DUVAL.
Clinique oto-rhino-laryngologique.....	SERGENT.
Clinique thérapeutique chirurgicale.....	BEZANÇON.
Clinique propédeutique.....	MATHIEU.
Clinique de la Tuberculose.....	HOVELACQUE.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte.....	MULON.
	OLIVIER.
	VERNE.
	MOCQUOT
Professeurs sans chaire.....	

II. — Agrégés en exercice

MM.		MM.	
BENARD Henri	Pathologie médicale.	GAYET	Physiologie.
BERNARD Et...	Pathologie médicale.	GIROUD	Histologie.
BOULIN	Pathologie médicale.	HAGUENAU ...	Pathologie médicale.
BULLIARD	Histologie.	HALPHEN	Oto-rhino-laryngologie
CATHALA	Pathologie médicale.	HAZARD	Pharmacologie.
CHEVALLIER ..	Pathologie médicale.	HUGUENIN ...	Anatomie pathologique
DOGNON	Physique.	JOANNON	Hygiène.
FEY	Urologie.	LABBE Henri...	Chimie biologique.
GALLIARD	Parasitologie.	LACOMME	Obstétrique.
GASTINEL	Bactériologie.	LANTUEJOUL ..	Obstétrique.
DE GAUDART	Pathologie chirurgicale	LAROCHE Guy.	Pathologie médicale.
D'ALLAINES.			



MM.

LEMAIRE Pathologie expérimentale.
 LEVEUF Pathologie chirurgicale.
 LEVY (M^{re} J.).. Pharmacologie.
 LEVY-VALENSI. Neurologie et Psychiatrie.
 MOREAU Pathologie médicale.
 MOULONGUET . Pathologie chirurgicale.
 MOUQUIN Pathologie médicale.
 OBERLING Anatomie pathologique.
 PETIT-
 DUTAILLIS. Pathologie chirurgicale.

MM.

PIEDELIEVRE . Médecine légale.
 PORTES Obstétrique.
 RICHEL Physiologie.
 SANNIE Chimie biologique.
 SENEQUE Pathologie chirurgicale.
 TROISIERS Pathologie expérimentale.
 TURPIN Pathologie médicale.
 VIGNES Obstétrique.
 WILMOTH Pathologie chirurgicale.
 BESANÇON (J.) Hydrologie.

III. — Agrégés rappelés à l'exercice pour le service des examens

MM.

ALGLAVE Pathologie chirurgicale.
 BUSQUET Pharmacologie.
 CHAILLEY-
 BERT..... Physiologie.

MM.

LEROUX Anatomie pathologique
 NEVEU-
 LEMAIRE.... Parasitologie.

IV. — Agrégés chargés de cours de clinique annexe à titre permanent

MM.

ABRAMI
 ALAJOUANINE .
 AUBERTIN
 BRULE
 CHABROL
 CHIRAY
 DONZELOT
 DUVOIR
 LIAN
 VALLERY-RADOT
 (Pasteur).
 SEZARY

Clinique médicale.

MM.

BASSET
 BROCC
 CADENAT
 GATELLIER
 HEITZ-BOYER .
 MOURE
 QUENU
 SCHWARTZ
 VELTER
 ECALLE.....
 GUENIOT
 LE LORIER.....
 LEVY-SOLAL ...
 METZGER

Clinique chirurgicale

Clinique obstétricale

V. — Chargés de cours

MM.

FREY Stomatologie.
 CHAILLEY-BERT, agrégé. Education physique.
 LEDOUX-LEBARD Radiologie clinique.
 WEIL-HALLE Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

Qui, au prix d'un dévouement quotidien, a su maintenir chez chacun de ses onze enfants, les belles traditions de notre famille.

Faible témoignage de mon affection.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LÉON BINET

Professeur de Physiologie à la Faculté de Médecine de Paris

Médecin à l'Hôpital Necker

Chevalier de la Légion d'Honneur

Qui nous a fait le grand honneur de
présider notre thèse.

Respectueux hommage.

A MONSIEUR LE DOCTEUR DU CASTEL

Médecin de l'Hôpital Bon-Secours

Chevalier de la Légion d'Honneur

Dont nous avons eu l'honneur d'être
l'interne pendant plus de trois ans.

Son exemple nous a fait compren-
dre la beauté de notre profession.

Qu'il en soit, ici, sincèrement re-
mercié.

A MES MAÎTRES DANS LES HÔPITAUX

M. LE DOCTEUR LE GAL LA SALLE (1927).

M. LE PROFESSEUR LE DAMANY (1928).

Dont nous avons été l'externe à
l'Hôtel-Dieu de Rennes.

M. LE PROFESSEUR LEREBoullet (1929).

M. LE DOCTEUR LAUBRY (1929).

Chez qui nous avons été stagiaire.

M. LE DOCTEUR DELHERM (1930).

M. LE DOCTEUR GRIVOT (1931).

M. LE DOCTEUR LEVESQUE (1931).

Dont nous avons été l'externe.

M. LE PROFESSEUR DAUTREBANDE

Qui, à plusieurs reprises, a daigné
nous recevoir à Liège, dans son Labo-
ratoire et nous initier lui-même à des
techniques dont il est le maître incon-
testé.

A MES MAÎTRES DE L'HÔPITAL BON-SECOURS

Internat

M. LE DOCTEUR COFFIN (1929-1930).

M. LE DOCTEUR DU CASTEL (1930-1934).

AVANT-PROPOS

Nous avons voulu dans cette étude grouper toutes les techniques relatives à la recherche des points iso-électriques, d'après la méthode de M. le Professeur VLÈS. Nous n'avons pas cherché à faire œuvre personnelle puisque nous nous trouvions en présence d'un enseignement éprouvé et mis au point dans plusieurs articles de revues scientifiques. Aussi chaque fois qu'il nous a été possible de citer textuellement les écrits de notre Maître VLÈS ou de ses collaborateurs immédiats, nous l'avons fait, pensant qu'il valait mieux sacrifier l'originalité d'un travail à la précision toujours requise dans les questions physico-chimiques.

Nous avons mis entre guillemets la plupart de nos emprunts; pas tous cependant et, en bien des endroits, les termes dont nous nous servons ont déjà été employés par VLÈS. Notre but sera atteint si le lecteur de ce modeste travail, ignorant la main qui a écrit ces lignes, y retrouve surtout l'écho fidèle d'un enseignement que nous avons été heureux de recevoir.

Nous tenons à redire à M. le Professeur VLÈS, toute notre gratitude pour l'accueil reçu à l'Institut de Physique biologique de Strasbourg. Longtemps nous nous rappellerons avec plaisir l'atmosphère de ce laboratoire. La fraîcheur et la lumière des matins alsaciens prédisposaient au travail joyeux; la gaité de tous en prolongeait l'effet stimulant et les heures passaient sans laisser dans leur sillage l'ennui ou la fatigue inhérente au labeur quotidien. Mlles GEX et KREIMER, M. l'Agrégé REISS, M. BERNSTEIN voudront bien trouver ici l'expression de notre reconnaissance.

Nous n'aurions garde d'oublier le laboratoire de Physiologie comparée de la Sorbonne, où grâce à l'obligeance de M. le

Professeur PORTIER, de l'Académie de Médecine, nous avons pu continuer, dès notre retour à Paris, le travail commencé à Strasbourg. Nous y avons trouvé l'appui et les conseils dont nous avons besoin. Nos remerciements sincères iront particulièrement à lui et à ses collaborateurs : Mlle DE RORTHAYS, Mme DRILHON, Mlle RAFFI, M. FONTAINE.

La partie clinique de notre thèse nous a fait pénétrer dans deux beaux services d'obstétrique : les services de MM. les Professeurs VIGNES, de Paris, et REEB, de Strasbourg. Nous les remercions bien sincèrement pour l'aimable accueil qu'ils nous ont réservé.

Si les circonstances l'avaient permis, cette thèse aurait comporté une partie expérimentale plus développée. Ce n'est que partie remise puisque M. le Professeur BINET, qui nous a fait l'honneur de nous admettre parmi les travailleurs de son laboratoire, veut bien continuer à nous y recevoir pour compléter nos recherches. Nous lui devons déjà d'avoir éveillé en nous l'amour de la physiologie alors que, jeune étudiant, nous écoutions avec admiration son enseignement si vivant et si passionné. Nous le remercions respectueusement pour cette nouvelle marque de bienveillance.

Nous nous rendrions coupable d'ingratitude et d'injustice si nous omettions de citer notre femme, parmi ceux qui nous ont facilité ce travail. Indépendamment d'un appui quotidien, elle a effectué plusieurs de nos cataphorèses avec la précision et la minutie indispensables dans les recherches physico-chimiques. Le résultat obtenu, si modeste soit-il, sera, nous en sommes sûr, sa meilleure récompense et nous dispensera de lui exprimer publiquement tous nos remerciements.

Contribution à l'étude DU POINT ISO-ELECTRIQUE DES PROTIDES

CHAPITRE PREMIER

ETUDE THEORIQUE DU POINT ISO-ELECTRIQUE DES PROTIDES

SOMMAIRE

§ I. — *Les Protides.* — Les protéides. 1°) Les holoprotéides; 2°) Les hétéroprotéides. § II. — *Le point iso-électrique.* — Définitions du point iso-électrique, formation des complexes; Théorie de VLÈS. § III. — *Le point iso-électrique en Biologie et en Pathologie humaine.* — A) Les points iso-électriques du sérum humain; a) sérums normaux; b) sérums pathologiques; 1°) pHi et maladies infectieuses aiguës; 2°) pHi et maladies infectieuses chroniques; a') pHi et Tuberculose; b') pHi et Syphilis; c') pHi et cancer. B) Utilisation en Biologie de la variation des points iso-électriques; a) valeur diagnostique du pHi; b) valeur pronostique du pHi; c) pHi et thérapeutique du cancer.

L'étude du point iso-électrique des protides oblige à un rappel des notions actuelles sur les protides. Dans le premier paragraphe de ce chapitre, nous en ferons un bref résumé. La théorie relative au point iso-électrique proprement dit fera l'objet du second paragraphe ; le troisième, dont le développement aura été volontairement plus poussé, sera consacré aux applications biologiques de cette notion dont les applications à la pathologie humaine remonte seulement à ces dernières années.

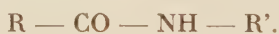
PARAGRAPHE PREMIER

Les protides

Les matières fondamentales qui entrent en majeure partie dans la composition du corps humain ont été groupées successivement sous des étiquettes nombreuses et variées : albumine, matières protéiques, protéines, etc., etc. Aussi fut-il jugé nécessaire de nommer une commission internationale de réforme de la nomenclature qui proposait, à Varsovie, en 1927, la classification et les définitions suivantes auxquelles nous allons nous tenir. Elles sont basées sur le caractère essentiel de ces substances azotées, de donner par hydrolyse un certain nombre d'acides aminés.

« Le terme de PROTIDE englobe actuellement les acides aminés naturels et tous les composés (peptides et protéides — ou mieux protéines —) donnant par hydrolyse un ou plusieurs de ces acides aminés.

« Le nom de PEPTIDE est réservé aux produits (naturels ou synthétiques) formés par l'union de plusieurs acides aminés et dans lesquels la liaison a lieu par perte d'une molécule d'eau entre un groupement aminé d'une molécule et un groupe carboxyle appartenant à la molécule suivante :



Cette liaison est dite peptidique et on distingue les di- tri- tetra- poly-peptides.

« Le terme général de PROTÉIDES ou protéines, s'applique à tous les autres protides qui se subdivisent en *holoprotéides* ou *holoprotéines*, qui ne donnent par hydrolyse que des acides aminés, et en *hétéroprotéides* ou *hétéroprotéines* qui contiennent, en outre, des éléments non protidiques, désignés sous le nom de « groupes prosthétiques. »

Ainsi, à la base de tous les protides se trouvent les acides aminés, soit seuls, soit comme produits terminaux de dégradation. Ce sera donc leur constitution chimique, qui, en fin

de compte, expliquera les propriétés principales des protides, en particulier, celle qui nous intéressera le plus au cours de cette thèse : leurs mouvements dans un champ électrique.

Nous allons rappeler brièvement, d'après les « Eléments de Chimie organique biologique » de POLONOVSKI et LESPAGNOL, les principales caractéristiques des protides et surtout des protéides.

Les protéides

A. *Composition centésimale.* — Les matières protidiques contiennent du carbone, de l'oxygène, de l'hydrogène, de l'azote et presque toujours du soufre.

Certaines contiennent en plus du phosphore.

Leur composition centésimale se meut dans les limites suivantes :

Carbone	50 à 55 %
Hydrogène	6,6 à 7,3 %
Azote	15 à 19 %
Oxygène	19 à 24 %
Soufre	0,3 à 2,4 %

B. *Réactions de coloration.* — Les réactions colorées des matières protidiques dépendent des acides aminés qui entrent dans leur constitution.

Le groupe tyrosine est caractérisé par la réaction de MILLON, le tryptophane par la réaction d'ADAMKIEWICZ.

La réaction xanthoprotéique y décèle les noyaux benzéniques et la réaction du biuret les liaisons peptidiques. Avec la ninhydrine, on obtient la coloration bleue caractéristique des acides α -aminés, et les groupements glucidiques sont mis en évidence par la réaction de MÖLISCH.

C. *Réactions de précipitation.* — Les solutions de protéides précipitent par :

- 1° Tous les acides forts.
- 2° Les sels des métaux lourds.
- 3° Les réactifs des bases (dits réactifs des alcaloïdes).

D. *Dégradation des protéides.* — L'hydrolyse des protéides aboutit, comme nous l'avons déjà dit, aux acides aminés. La méthode de DAKIN qui repose sur l'extraction de certains acides aminés par l'alcool butylique et par l'alcool ordinaire, permet de diviser les amino-acides obtenus, en plusieurs groupes :

- 1° Les acides mono-aminés.
- 2° La proline..
- 3° Les dicétopipérazines.
- 4° Les acides dicarboxylés.
- 5° Les acides diaminés.

E. *Poids moléculaire des protéides*. — Ce poids a été déterminé par trois procédés physiques qui ont donné des résultats concordants. Ce sont :

- 1° La mesure de la pression osmotique (ADAIR).
- 2° La mesure du coefficient de diffusion (NORTHROP et ANSON).
- 3° La mesure de la vitesse de sédimentation des molécules protéiques au cours de l'ultra-centrifugation (THE SVEDBERG).

F. *Structure des protéides*. — Les tentatives de synthèse de polypeptides, dont la méthode fondamentale a été mise au point par E. FISCHER, et d'autres types de méthodes par MAILLARD, etc..., ont consisté à faire des soudures d'acides aminés. Elles montrent la grande analogie qui existe entre les polypeptides artificiels et les moins complexes des molécules protéidiques. Aussi ont-elles été considérées comme un argument de la structure polypeptidique des protéides. Celles-ci seraient constituées par des chaînes d'acides aminés unis par des liaisons peptidiques — CO - NH —.

ABDERHALDEN a préféré défendre la constitution cyclo-peptidique des protéides. Cette conception est basée sur leur groupement constitutif essentiel : la dicétopipérazine :



Les protéides seraient formées d'un assemblage de cyclo-peptides et de chaînes peptidiques d'acides aminés, les premiers constituant l'élément le plus important et le plus abondant. Cette théorie a été reprise, avec quelques variantes par BLANCHETIÈRE, SADIKOW, KARRER, BERGMANN, TROENSEGAARD, WILLSTAETTER et DE WALDSCHMIDT-LEITZ.

G. — *Classification des Protéides*. — D'après la classification du Congrès, elles se divisent en :

- 1° Holoprotéides.
- 2° Hétéro-protéides.

A. — Dans les holoprotéides rentrent :

- a) Les protamines découvertes dans le sperme du poisson.
- b) Les histones (Globine).
- c) Les prolamines; Gliadines du blé; Zéine du maïs, etc... On peut en rapprocher les glutelines.

Les poids moléculaires obtenus paraissent être tous des multiples de 34.000 environ. En voici quelques-uns :

Ovalbumine	34.500
Serumalbumine	67.500
Serumglobuline	104.500
Phycocyanine	206.000
Hémocyanine (Helix pomatia).....	4.930.000

d) Les albumines proprement dites :

Ovalbumine du blanc d'œuf; Serumalbumine (du sang, de la lymphe, des exsudats et des transsudats, des urines de néphrétiques); Lactalbumine du lait.

e) Les globulines :

Serumglobuline; Lactoglobuline; Ovoglobuline; Fibrinogène; Fibrine.

B. — Les holoprotéides dégénérés (albumoïdes). Ils comprennent :

a) Les scléroprotéides :

Spongine; Gorgonine; Sericine; Fibroïne.

b) Les collagènes et keratines :

Osséine des os; Elastine des fibres élastiques et des ligaments; Keratine des phanères (ongles), cheveux, tissus nerveux.

Les hétéroprotéides

Ce sont, par définition, des substances que l'hydrolyse scinde en *protide* et en une autre substance non protidique (PO^4H^3 , glucide, acide nucléique, etc.), appelée groupement *prosthétique*.

On les classe en :

1° Glycoprotéides.

Mucines (du mucus, de la synovie, du tissu conjonctif, des kystes). Mucinoïdes (ovomucoïde du blanc d'œuf, liquide du kyste de l'ovaire, chondromucoïde du cartilage, substance amyloïde).

2° Phosphoprotéides.

Caséine du lait; Vitelline du jaune d'œuf.

3° Nucléo-protéides.

Ils sont le plus souvent localisés dans les noyaux des cellules : ce sont eux qui impriment au noyau la réaction acide. Leur groupement prosthétique est l'acide nucléique.

4° Chromoprotéides.

Hémoglobine; Hémocyanine; Phycocyanine (des algues). Leur groupement prosthétique est une matière colorante.

Entre les protéides et les acides aminés, nous intercalerons les substances de transformation obtenues par action d'agents hydrolysants variés (acides dilués, vapeur d'eau surchauffée, peptase,

catheptase, etc...) sur les albumines. Ce sont en effet des protéides sur la voie des acides aminés. Tous rentrent dans le groupe des polypeptides. Le sulfate d'ammoniaque à saturation les sépare en deux groupes, représentant non des stades successifs de dégradation, mais plutôt des structures moléculaires différentes.

Les Albumoses :

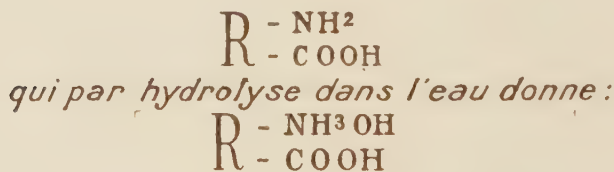
(Albumines thermo-solubles ou albumines de Bence-Jones; Albumine acéto-soluble de Patein).

Les Peptones.

PARAGRAPHE II

Le point iso-électrique

La plupart des propriétés physico-chimiques des protides ne sont qu'un cas particulier de propriétés générales des substances ampholytes. Celles-ci sont des électrolytes susceptibles de posséder à la fois des fonctions acides et des fonctions basiques. Ces corps se ramènent directement ou indirectement (action de l'hydrolyse) à un type général $\text{O H} - \text{R} - \text{H}$ avec un ion H^+ et un ion O H^- libérables. Une protéine quelconque se présente avec le symbole suivant :

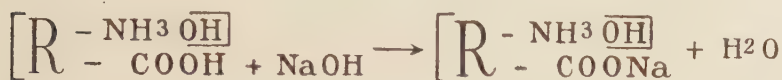


Par sa fonction amine NH_2 , elle peut se combiner avec les acides ; par sa fonction carboxyle COOH elle peut se combiner avec les bases.

Dans les milieux alcalins (pH élevés) la dissociation de la fonction basique diminue ou même est bloquée, en vertu de la loi de masses ; celles de la fonction acide augmente. L'ampholyte se comporte donc comme un acide libre, un anion,

et peut former des sels avec les bases. Mettons entre crochets la partie de la protéine qui ne peut réagir et laissons libre la portion apte à se combiner.

En présence d'un hydroxyde, par exemple NaOH, il se formera un protéinate de sodium :



Ce protéinate de sodium se dissociera électrolytiquement en un anion de protéine négatif et un cation Na⁺ positif.

DONC EN MILIEU ALCALIN LA PROTÉINE SERA ÉLECTRO-NÉGATIVE ET SE PORTERA VERS LE PÔLE POSITIF.

Dans un milieu très acide à forte concentration en ions H⁺ (faibles pH) la dissociation de la fonction acide est diminuée ou même bloquée pour des raisons exactement inverses, tandis que la fonction alcaline est, au contraire, libérée. La molécule se comporte alors à la manière d'une base libre, d'un cation et peut être salifiée par un acide.

En présence d'acide chlorhydrique, nous aurons la réaction suivante :



Ce chlorure de protéine se dissociera électrolytiquement en un cation de protéine et en un anion de Chlore de la façon suivante :

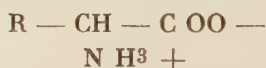


DONC EN MILIEU ACIDE LA PROTÉINE SERA ÉLECTRO-POSITIVE ET SE PORTERA VERS LE PÔLE NÉGATIF.

Enfin, il s'ensuit que pour une certaine valeur de la réaction, intermédiaire entre ces deux extrêmes, l'ampholyte doit avoir ses deux valences également peu dissociées, soit même toutes deux bloquées : à ce moment il est en quelque sorte « hermaprodite » (VLÈS), électriquement neutre.

A ce stade intermédiaire, placé dans un champ électrique, il ne se transportera ni comme un anion ni comme un cation, mais restera indifférent. Ce point de transport électrique nul est dit *point iso-électrique* et est caractérisé par la valeur qu'y présente la réaction du milieu (pH iso-électrique pHi). Il faut bien noter qu'il ne coïncide généralement pas avec la neutralité chimique du milieu, il a une valeur spécifique pour chaque ampholyte et constitue une importante constante caractéristique de celui-ci.

BJERRUM attribue à l'ampholyte au point iso-électrique une formule de sel doublement ionisé (*Zwitterion*) et le représente ainsi :



Les anciens chimistes avaient supposé au contraire qu'il s'agissait d'une salification interne et lui supposaient une formule bêtaïnique par neutralisation du carboxyle et du groupe N H² :



C'est HARDY qui a noté le premier que les protéides en solution soumises à l'action d'un courant électrique se déplaçaient tantôt vers un pôle, tantôt vers l'autre suivant l'acidité ou la basicité de la solution.

MICHAELIS étudiant diverses albumines, en particulier la sérumalbumine et la sérumglobuline, nota que le changement était brusque à $\text{cH}^3 \times 10^{-5}$ (pH 4,7) pour la sérumalbumine — à $\text{cH} = 4 \times 10^{-6}$ pour la globuline et à $\text{cH} = 1,8 \times 10^{-7}$ pour Hb O₂.

VLÈS fait d'ailleurs remarquer « que la transformation des ampholytes d'anions en cations aux points iso-électriques ne se fait totalement que dans le cas usuel pour les protides ou les degrés de dissociation α de ces ampholytes sont pratiquement nuls à ces points. Mais si α n'est pas nul, il y a au delà des points iso-électriques une certaine marge (dont l'étendue dépend précisément de α) où des molécules présentent encore les propriétés nécessaires à une combinaison : on aura affaire à un équilibre statique où existeront des restes de molécules anions dans la zone des cations et réciproquement. Le point critique de la transformation totale sera en réalité donné par le moment où le degré de dissociation de la valence intéressante sera nul ou négligeable.

L'intérêt pratique de ces notions est que le point iso-électrique se présente en général comme un point critique des propriétés de l'ampholyte : Pour des protéides en particulier (LOEB) il correspond à un minimum de solubilité, un maximum d'instabilité en solution (floculation), une viscosité minima, une liaison minima avec les électrolytes périphériques (c'est-à-dire une faculté minima de combinaison), un maximum ou un minimum de propriétés optiques (pouvoir rotatoire, diffusion) (VLÈS et VELLINGER) ; et pour les gels, un gonflement minimum par l'eau ou, au contraire, une rigidité maxima (MICHAUD, etc.). On voit donc que ce qui importera le plus pour définir les propriétés d'un ampholyte tel qu'une substance protéique à un moment déterminé, sera la valeur de la réaction du milieu par rapport au point iso-électrique de l'ampholyte, c'est-à-dire la distance entre le pH et le pHi.

Une expérience fondamentale de LOEB montre qu'en réalité une protéine se comporte bien, tantôt comme un acide, tantôt comme une base, suivant le pH du milieu dans lequel elle se trouve.

Voici le résumé de cette expérience : « On prépare par addition d'acide ou de soude, des échantillons de gélatine en poudre à des pH divers échelonnés dans l'échelle des réactions; on met ces gélatines en contact, dans ces pH, avec du nitrate d'argent (à froid et à l'obscurité), puis on les lave pour enlever l'excès de nitrate d'argent, et enfin on les fond à 40° pour faire des solutions homogènes. Les tubes étant mis à la lumière, on constate qu'un

certain nombre d'entre eux noircissent par action photo-chimique sur un sel d'argent; or le noircissement se produit pour tous les tubes dont le pH est supérieur à 4,6 et ne se produit pas au-dessous de cette valeur. Si la gélatine incolore de ces pH bas est à son tour alcalinisée pour la ramener dans les pH hauts, on constate

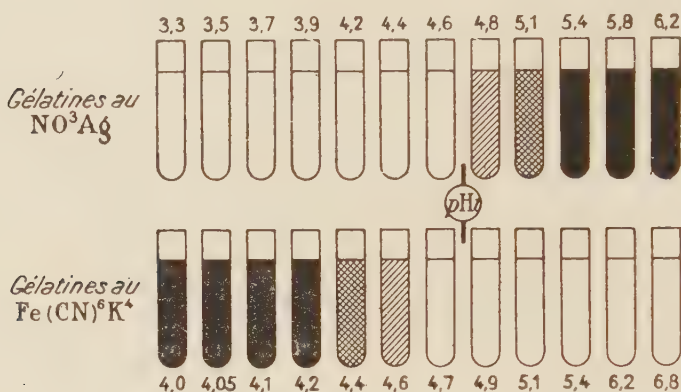


FIG. 1.

qu'elle est incapable de noircir. La gélatine n'a donc été capable de retenir le cation argent et de faire un gélatinate d'argent qu'au dessus de pH 4,6. Elle ne se comporte comme un acide libre qu'au dessus de son point isoélectrique.

Inversement on peut montrer qu'au dessous de son point isoélectrique la gélatine se comporte comme un cation. On met cette fois les gélatines en poudre de pH divers en contact avec du ferrocyanure de potassium, puis on les lave. Or les gélatines de pH inférieurs à pH 4,6 bleuissent à la lumière (il y a formation d'un sel ferrique), alors que les tubes supérieurs à pH 4,6 restent incolores. Les gélatines n'ont donc retenu les ions ferrocyanhydriques, et ne se comportent comme un cation qu'au dessous du point isoélectrique (VLES. *Précis de Chimie-Physique*, p. 297).

Définition du point iso-électrique

Deux sortes de définitions peuvent être attribuées au point iso-électrique. Les premières sont des définitions directes, elles sont vérifiées le plus souvent par la cataphorèse. A ce type peut être rattachée la définition suivante :

Le point iso-électrique est le pH où, dans le transport électrique, la substance change de sens de transport, étant cation du côté des pH bas et anion du côté des pH élevés. Ceci est réalisé dans deux conditions :

1° Au moment où la charge électrique d'une protéide est nulle, c'est-à-dire au moment où il y a égalités de valences dissociées du côté alcalin et du côté acide.

2° Lorsque les ions H^+ libérés par la valence acide sont égaux aux ions OH^- libérés par la valence alcaline.

Ces deux conditions ne sont, d'ailleurs, équivalentes que dans la mesure où la protéide est en solution privée de sel. En milieu salin en effet, la fixation ou la libération par les valences d'anions et de cations se fait par un partage entre les anions et les cations de sel, et les ions H^+ et ions HO^- .

Les secondes définitions peuvent être dites, définitions dérivées, par ce qu'elles s'appuient sur la constatation expérimentale de conséquences théoriques tirées de la notion de point iso-électrique.

Dans celles-ci rentreront les définitions qui font du point iso-électrique le moment où la protéine présente le minimum de solubilité.

Cette propriété par exemple, sera mise en évidence en ajoutant une quantité d'alcool constante dans des volumes égaux de solutions à divers pH et en observant dans quel pH le précipité est maximum (indice d'alcool). C'est une définition secondaire puisqu'elle est basée en fait sur l'hypothèse qu'à l'égalité de dissociation des valences acides et alcalines doit correspondre un minimum de dissociation et par conséquent un minimum de solubilité.

VLES et DE COULON ont montré qu'il n'y avait pas identité parfaite entre les deux types de définition.

Cette identité imparfaite ne serait-elle pas due à ce que les deux opérations expérimentales (cataphorèse et indice d'alcool) ne mettent pas en évidence le même type de processus. L'indice d'alcool ou la précipitation par l'acétone donnent le minimum de solubilité d'un complexe total dans un pH qui est celui initial de la solution (légèrement modifié par l'introduction des premières portions du liquide organique précipitant qui a une basse constante diélectrique). Par contre, la cataphorèse

effectue une véritable séparation analogue à ce que serait une électrolyse, en scindant des complexes dont nous retrouvons les éléments séparés. Ce sont les points iso-électriques de ces éléments que nous mettons le plus souvent en évidence. La cataphorèse pénètre donc en quelque sorte plus avant dans la structure moléculaire des complexes et peut mettre davantage en lumière les constituants que le constitué global (VLÈS).

La distinction des deux définitions possibles du point iso-électrique, sur laquelle nous avons insisté plus haut a conduit à la scission de la définition du point iso-électrique qui a été tentée récemment par SÖRENSEN, LINDERSTRÖM-LANG, LUND, lesquels distinguent des points iso-électriques et des points isoioniques. « La détermination de la capacité de combinaison avec les acides et les bases permet de déterminer pour un ampholyte l'ionisation

βH

spécifique de son hydrogène : $h = \frac{\beta H}{c_A}$ qui est le rapport de

la concentration βH des ions H^+ pris ou donnés par lui à la concentration c_A de l'ampholyte. La réaction iso-ionique de l'ampholyte est la valeur du pH (ou plus exactement du pAH pour lequel l'ionisation spécifique de l'hydrogène est nulle, $h = 0$: point où l'ampholyte est incapable de se combiner à un acide ou à une base. Par contre la valence moyenne de l'ampholyte qui met en jeu la faculté de combinaison avec n'importe quel électrolyte, les sels en particulier est :

$$r = \frac{\beta_H + \beta_{BH} - \beta_S}{c_A} = \frac{\sum c_r r}{c_A}$$

($\beta_H, \beta_S, \beta_{BH}$) quantités d'ions H^+ et d'ions provenant du sel BHS en suivant la notation actuelle de BRONSTED pour la définition des acides et des bases; c_r est la concentration de la molécule r , valente et définit une notion qui n'est pas identique à la précédente; le pH (ou plus exactement le p à H), pour lequel la valence moyenne de l'ampholyte est nulle, $r = 0$ est le point iso-électrique proprement dit. Suivant les conditions expérimentales l'un ou l'autre des points iso-ionique ou iso-électrique, peut être mis en évidence et leurs deux valeurs peuvent ne pas coïncider » (VLÈS d'après SÖRENSEN).

Un problème supplémentaire se pose relativement au nombre de points iso-électriques que peuvent donner plusieurs substances. Les anciens auteurs ont décrit un point iso-électrique par

substance, mais des méthodes plus fines comme l'étude des courbes de neutralisation ou même la cataphorèse ont mis en évidence plusieurs points iso-électriques pour la même substance.

Théoriquement les calculs montrent que les acides aminés et les ampholytes polyvalents, doivent avoir plusieurs points iso-électriques si leurs valences ont des dissociations échelonnées dans l'échelle des pH. Prenons le cas d'un ampholyte

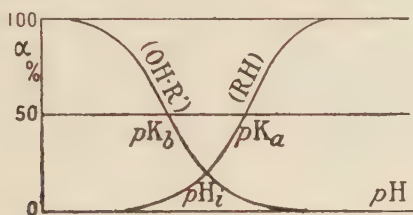


FIG. 2.

polyvalent présentant par exemple une valence alcaline et deux valences acides : « Il peut y avoir pour les points iso-électriques plusieurs valeurs possibles qui ne sont pas nécessairement confondues. Par exemple dans le cas ci-dessous, l'une des valeurs est relative à la dissociation simultanée des deux valences acides a_1 et a_2 pour laquelle on a

$$pHi_1 = \frac{1}{3} (pKa_1 + pKa_2 + pKb)$$

L'autre est relative à la dissociation d'une seule valence acide et est du type

$$pHi_2 = \frac{1}{2} (pKa_1 + pKb)$$

En somme on a d'une façon générale pour l'ampholyte polyvalent

$$pHi = \frac{\sum pK}{n}$$

dans lequel n représente la totalité des valences acides ou alcalines, actuellement dissociées et $\sum pK$ la somme de leurs

constantes respectives. On voit donc qu'un ampholyte polyvalent, le long de l'échelle des pH où la totalité de ses valences ne sera pas toujours simultanément opérante, pourra présenter autant de points iso-électriques qu'il y aura $(n - 1)$ valences.

Le problème devient plus compliqué en présence d'un mélange d'ampholytes mono ou poly-valents comme c'est le cas le plus habituel en biologie et en pathologie, puisque tous les liquides de l'organisme tels que le sang, les liquides d'épanchement, etc... sont des mélanges de plusieurs albumines. VLÈS a abordé cette question à un point de vue théorique et les lignes qui vont suivre ne sont qu'un résumé de son travail par Paul-H. ROSSIER dans un article d'ensemble paru aux *Annales de Médecine* (avril 1928).

Formation des complexes. Théorie de Vles

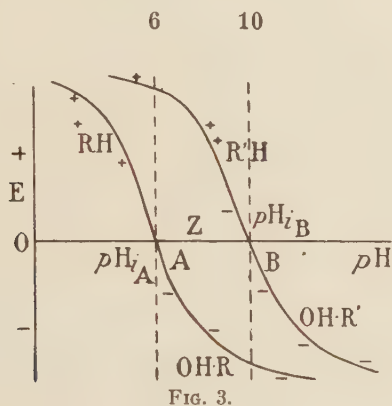
Formation des complexes, Théorie de VLES : « Imaginons une solution de deux albumines A et B représentée par les symboles HROH et HR'OH, et considérons-les comme des ampholytes monovalents, c'est-à-dire comme n'étant capables de ne libérer qu'une seule valence acide ou basique et appelons le point isoélectrique de A pHiA et celui de B pHiB. Pour fixer les idées, attribuons à pHiA la valeur 6 et à pHiB la valeur 10. Au-dessus de pH 10 la solution de ces ampholytes ne contiendra que des ions protéiques électro-négatifs : ROH et R'OH, tandis qu'en dessous de pH 6 les ions protéiques seront positifs. RH et R'H et se mouvront vers la cathode si la solution est placée dans un champ électrique. Mais dans les solutions dont le pH est compris entre pH 6 et pH 10, il y aura mélange d'ions électro-positifs RH et d'ions électro-négatif R'OH.

Ces ions seront capables de former un complexe HR - R'OH qui sera lui-même un ampholyte ayant à son tour un point iso-électrique que nous appellerons pHi C. Ce complexe n'existera que dans une zone Z très limitée de pH : plus on s'éloignera de cette zone, plus le complexe aura tendance à se dissocier en ses éléments constituants.

Si l'on soumet à la cataphorèse le mélange des ampholytes A

et B, on pourra théoriquement mettre en évidence 3 points iso-électriques, $pH_i A$, $pH_i B$, $pH_i C$, en outre on constatera la présence de deux points dits, neutres de seconde espèce ou le transport sera égal dans les deux sens, mais où le système sera négatif du côté des faibles pH et positif du côté des forts pH , alors que l'inverse a lieu au point iso-électrique. Si nous recherchons quel sera théoriquement le sens du transport des ions protéiques sous l'influence d'un champ électrique dans la zone de pH comprise entre le point iso-électrique de la substance A et celui du complexe $HR - R'OH$ issu de l'union des ions de signe contraire de A et B, nous pouvons schématiquement diviser cette zone en trois fractions.

1° Une zone de pH située dans le voisinage du point iso-électrique du complexe $HR - R'OH$ ($pH_i C$), où il y aura prédominance des ions négatifs $R - R'OH$ issus de ce complexe, on trouvera donc un transport vers l'anode.



2° Une zone de pH située aux environs du point iso-électrique de la substance A ($pH_i A$), où le complexe $RH - R'OH$ s'étant dissocié en majeure partie en ses constituants, il y aura prédominance numérique des ions HR sur les ions $R - R'OH$ du complexe et transport vers le pôle négatif.

3° Une zone de pH située entre les deux zones précédentes où les charges des composants HR et $R - R'OH$ seront égales. Il y aura donc transport de même valeur aux deux pôles, ce sera le point neutre de seconde espèce.

Le même raisonnement est applicable à la zone de pH comprise entre $pH_i C$ et $pH_i B$. C'est ainsi que le mélange de deux ampholytes donnera naissance à trois points iso-électriques et deux points neutres de seconde espèce.

On peut schématiquement représenter ce phénomène de la manière suivante :

Si nous compliquons le problème afin de nous rapprocher davantage des conditions qui se rencontrent en biologie et si nous considérons non plus le mélange de deux, mais de plusieurs ampholytes, mais devons admettre qu'ils formeront des complexes deux à deux, en fin de cause, aboutir à la formation d'un complexe total à point iso-électrique situé vers la moyenne des divers points iso-électriques des constituants. On peut schématiser ce processus à l'aide d'une figure empruntée au travail déjà cité de VLES.

Il est infiniment probable que les éléments protéiques isolés et reconnus par les chimistes, globulines, englobulines, paraglobulines, albumines, etc... sont des entités chimiques isolables in vitro mais qu'in vivo, où elles coexistent en présence, ne sont pas toujours dans certaines conditions de pH, indépendantes les

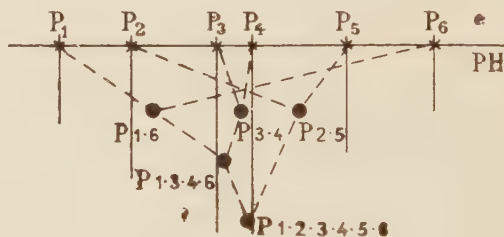


FIG. 4.

unes des autres. Ces colloïdes forment vraisemblablement des complexes les uns avec les autres, les charges des uns neutralisant partiellement les charges des autres, les éléments se collant et se protégeant mutuellement au hasard des rencontres électrolytiques en un certain nombre de complexes plus ou moins fragiles et plus ou moins complets, que le chimiste décortique en quelque sorte pour en extraire, voire par la simple précipitation, telle ou telle albumine, telle ou telle globuline.

Il est important de remarquer que de tels complexes ne doivent avoir qu'un domaine de stabilité ou si l'on préfère un territoire d'existence assez restreint dans l'échelle des pH, puisque dès que l'on dépasse dans celle-ci le point iso-électrique d'un des constituants du complexe, il est susceptible de se retirer de l'association : le complexe s'égrène en parcourant la gamme des pH » (VLES, archives de physique biologique, août 1925).

PARAGRAPHE III

Le point iso-électrique en biologie et en pathologie humaine

Les premières expériences de cataphorèse effectuées par VLÈS et DE COULON ont été faites avec des purées de muscle de souris. Les souris mâles montrèrent un point iso-électrique A se plaçant régulièrement dans une zone comprise entre pH 5, 8, et pH 7 avec une indépendance certaine de l'âge du sujet. Un point C se retrouvait souvent entre pH 9 et pH 10.

Les femelles présentèrent des aberrations qui paraissaient liées à leur état génital. Les souris vierges se sont comportées comme les mâles adultes, avec un point A dans la zone normale de ceux-ci. Chez les souris gravides, le point A s'éleva vers les forts pH (entre pH 7 et pH 8) puis descendit au-dessous de la normale au moment du terme. Cette élévation vers les forts pH s'est également retrouvée avec l'invasion et la période d'état de certaines infections bactériennes à virulence précoce, avec l'abcès aseptique à la térébenthine, avec l'existence de tumeurs. L'abaissement vers les faibles pH s'est vu avec un staphylocoque doré.

L'étude des variations corrélatives du point iso-électrique et de l'évolution des tumeurs cancéreuses a, en particulier, été poussée très loin. Elle a nécessité des milliers de souris blanches. Nous en reparlerons à la fin de ce premier chapitre.

Ces points iso-électriques, trouvés au cours des cataphorèses de muscles de souris furent ensuite recherchés dans le sérum humain.

A. — LES POINTS ISO-ELECTRIQUES DU SERUM HUMAIN

a) Sérums normaux

VLÈS et DE COULON, pour déterminer les points iso-électriques de l'individu normal, ont prélevé du sang, soit sur des

adultes sains qui s'étaient prêtés bénévolement à la prise de sang, soit chez des sujets arrivant à l'hôpital pour des lésions traumatiques toutes récentes, telles que des fractures qui ne paraissent pas mettre en jeu de mécanisme humoral immédiat, ou encore des appendicites devant être opérées à froid.

Les résultats ont été extrêmement constants.

CHEZ L'HOMME, furent déterminés :

Un point α situé au voisinage de pH 5,5 et paraissant très stable comme position, il ne dépasse jamais ni 5 ni 6.

Un point γ beaucoup plus élevé placé entre 11 et 12 mais, moins stable que le précédent, il est sujet à descendre jusqu'à pH 9.

Un point β déterminé par extrapolation comme inférieur à 5.

Un point δ soupçonné quelquefois par extrapolation au delà de pH 12.

CHEZ LA FEMME NORMALE, plusieurs causes de perturbations furent mises en évidence. Premièrement le cycle génital joue un rôle très important qui n'a pas encore été complètement étudié. De plus, on obtient des chiffres différents suivant que l'on s'adresse à des femmes ou à des filles vierges. Comme le font remarquer VLÈS et DE COULON, il est souvent particulièrement difficile et délicat de choisir et de délimiter les sujets rentrant dans cette catégorie et il y aura lieu dans la suite des expériences de tenter de définir à quoi correspond la virginité génitale au point de vue humoral. Il est infiniment peu probable qu'il s'agisse là d'une virginité anatomique, mais bien d'une virginité physiologique, laquelle n'est pas forcément liée à la précédente. On pourrait supposer que c'est l'éveil à la vie génitale qui s'accompagne de perturbations métaboliques, sécrétions internes, etc...

LEWICKI n'a-t-il d'ailleurs pas signalé des modifications des propriétés du sérum chez la femme comme conséquence du coït.

Quoi qu'il en soit, les résultats obtenus dans le sexe féminin normal ont été les suivants :

FILLES VIERGES. — Les sujets étudiées étant échelonnées entre 12 à 40 ans, on a déterminé :

Un point iso-électrique aux environs de pH 5,5, extrêmement stable et correspondant au point α du sérum des hommes.

Un point β soupçonné dans un certain nombre de cas au-dessous des limites de pH utilisées.

Aucun point (à l'exception de deux cas) ne s'est montré, d'une façon constante, comme correspondant au point γ .

FEMMES. — Pas de point iso-électrique à pH 5,5, mais un point assez stable à 6,5. Pas de point γ dans la majorité des cas.

Seul chez une femme âgée de 54 ans on trouve un point à pH 5,5. Ce sérum présente d'ailleurs également un point singulier vers 11 qui est peut-être un rappel du point γ . Les modifications chez la femme enceinte sont étudiées à la fin de cette étude.

POINTS ISOÉLECTRIQUES DU PLASMA ET DU SÉRUM

ROSSIER a été amené à étudier les points isoélectriques du plasma en comparaison avec ceux du sérum, au cours de recherches sur le mécanisme des variations de vitesse de sédimentation des globules rouges. Voici ses conclusions (*A.P.B.* novembre 1926 et *Annales de médecine*, avril 1928).

1° Le point iso-électrique α existe dans la grande majorité des cas, simultanément dans le sérum et dans le plasma, et il y est situé au même pH. S'il y a discordance, le point α du plasma est situé à un pH inférieur à celui du sérum, la différence n'excédant pas une unité de pH.

2° Il existe dans le plasma un point iso-électrique quasi constant situé aux environs de pH 8 qui n'a pas son homologue dans le sérum. Ce point appelé F, semble devoir être attribué à la présence du fibrinogène, dont le point isoélectrique est situé d'après KUGELMASS à pH 8. Nous verrons par la suite qu'il est possible d'interpréter différemment l'origine du point F.

3° Le point isoélectrique γ du sérum ne se retrouve pas dans la cataphorèse du plasma; il y est remplacé par le point F situé à pH 8, à moins que l'on admette que le point γ soit le point isoélectrique d'une substance protéique dérivant du fibrinogène lors de la coagulation.

b) Sérums pathologiques

POINTS ISO-ÉLECTRIQUES ET MALADIES INFECTIEUSES AIGÜES. — VLÈS et DE COULON résumant leurs recherches concernant les sérums pathologiques, écrivaient : « Dans les sérums pathologiques, très divers, examinés, le point γ a présenté très souvent un déplacement le faisant sortir de sa zone normale et quelque fois même disparaître complètement de l'échelle employée (pH 5-12). Autant qu'on peut en juger jusqu'à présent, la répartition en fréquence du déplacement est inégale dans les diverses affections. En particulier l'élévation de γ au-dessus de la zone normale a paru constante (100 %) dans les infections aiguës à la période d'état (scarlatine, phlegmon, pneumonies) avec retour à la zone normale (après une phase négative) dans la convalescence.

Cette variation des points iso-électriques au cours des maladies infectieuses aiguës a été également suivie par ROSSIER. Celui-ci fait d'abord remarquer qu'il s'agit surtout du décalage du point α vers les forts ou les faibles pH. Parmi les infections aiguës, certaines jusqu'à présent semblent agir peu sur α . Ce sont la scarlatine, la rougeole, la parotidite épidémique, la grippe non compliquée. Certaines autres, parmi lesquelles rentrent toutes les affections respiratoires telles que broncho-pneumonies, pneumonies, ont, au contraire, une influence considérable sur les points iso-électriques.

D'une manière générale, le déplacement de α vers les forts pH semble précéder l'apparition des symptômes cliniques. A la période d'envahissement et d'état des maladies infectieuses, ce décalage est constant. Le maximum de déplacement n'est généralement pas atteint au début de la période d'état. Il continue habituellement à monter jusqu'à une valeur maximale à laquelle il arrive plus ou moins rapidement.

« Lorsque la guérison clinique intervient, le point iso-électrique α évolue suivant deux modes, tantôt il s'abaisse immédiatement, tantôt au contraire, il continue à monter dans l'échelle des pH, pour ne s'abaisser que plus tard.

Dans le cas où il y a manque de parallélisme entre la guérison clinique et le commencement de la baisse du point α , le début du retour à la normale se fait après un temps plus ou moins long, mais il est un fait certain, c'est que le point α revient à la normale tôt ou tard, retour qui, dans certains cas, se fait progressivement sans à-coup, tandis que dans d'autres, l'abaissement s'accompagne de fortes oscillations qui peuvent couvrir plusieurs unités de pH. »

« Si l'on suit les malades suffisamment longtemps, ce qui en clinique est difficile, à la période de décalage du point α vers les forts pH succède une phase d'abaissement au-dessous de pH 5,5. C'est la phase de négativité qui semble être un signe certain de guérison. Puis après cette phase de négativité, le point réintègre sa zone normale de pH.

« Le retour de α à la normale semble prendre un temps variable pour s'effectuer, mais en moyenne il nous paraît qu'il faille compter en semaines, si ce n'est en mois. » (ROSSIER).

Au cours des récides, le point α qui s'était abaissé lors de la guérison de la première atteinte, présente une nouvelle ascension lorsque la récide intervient.

Les autres points iso-électriques β et γ évoluent plus ou moins parallèlement au point α . Quand α monte, β apparaît dans l'échelle des pH utilisés et γ en sort. Le contraire se voit quand α baisse. Cependant ce synchronisme n'est pas constant et l'on trouve parfois une ascension de α correspondant à une baisse de β .

2° POINTS ISO-ÉLECTRIQUES ET MALADIES INFECTIEUSES CHRONIQUES

α' — Point iso-électrique et tuberculose

VLÈS et DE COULON, en 1925-1926 après avoir étudié le sang des tuberculeux pulmonaires avaient noté un déplacement du point α vers les pH élevés ainsi que de grandes oscillations de γ qui pouvait descendre jusqu'à rejoindre la zone des points α

à leur maximum d'élévation. L. et H. CARVALHO reprenant cette étude avec une méthode différente, arrivaient à des résultats équivalents. BERNSTEIN, en 1930, s'attaquait au même problème en cherchant à établir une relation entre les variations du point iso-électrique et les différentes formes de tuberculose. Nous rapportons ici le résumé de ces recherches, présenté à la Société de Biologie de Strasbourg (janvier 1934) :

« Nous avons examiné dit-il une quarantaine de cas que nous avons classés en cinq groupes cliniques en utilisant les principes de la classification de Léon BERNARD :

« Premier groupe : organismes vierges non imprégnés de Bacilles de Koch avec cuti-réaction négative (7 cas).

« Deuxième groupe : période primaire de la primo-infection (cicatrisation complète du complexe primaire au niveau du poumon) cuti-réaction positive (état allergique) (5 cas).

« Troisième groupe : période secondaire de la primo-infection, caractérisée par une diffusion lymphogène intra ou extrapulmonaire du Bacille de Koch à partir du complexe primaire mal cicatrisé (7 cas).

« Quatrième groupe : surinfections de la tuberculose pulmonaire : *a*) surinfections au début (9 cas); *b*) formes évolutives de la surinfection : 1°) formes fibro-caséuses (2 cas); 2°) formes ulcéro-caséuses (3 cas).

Cinquième groupe : tuberculoses cutanées (3 cas).

« *Groupe I.* — Trois hommes ont présenté un seul point iso-électrique, estimé comme α , vers pH 8-9. Leur pouvoir alexique a été de l'ordre de 60-90. Par contre, quatre enfants ont été beaucoup plus irréguliers ; 3 ont montré un point iso-électrique compris entre pH 5,3 et 7,5 précédé ou suivi parfois d'un point neutre. Le 4° a donné un point au-dessous de pH 3,5. Le pouvoir alexique dans les cas mesures a varié entre 55 et 80. Cette irrégularité des points iso-électriques est peut-être une simple expression de l'instabilité humorale connue chez les enfants.

« *Groupe II.* — Trois hommes et deux femmes avec cuti positive. Ils ont eu un point iso-électrique α très constant au voisinage immédiat de pH 5 ($\pm 0,5$ environ) suivi toujours d'un point neutre séparé du point α par une ou deux unités de pH,

ce qui annonce l'existence d'un point γ (lequel a été hors de l'échelle des pH dans 4 cas sur 5). Le pouvoir alexique a varié, dans ces cas, entre 40 et 77.

« *Groupe III.* — Trois enfants (2 garçons et 1 fille) et 5 adultes (3 femmes et 1 homme). Les résultats obtenus sont assez voisins de ceux du groupe précédent. Le point iso-électrique α déjà moins stable, peut se placer entre 4,5 et 7,6 suivi toujours d'un point neutre qui annonce un point γ hors de l'échelle des pH examinés. Le pouvoir alexique a encore varié entre 40 et 70.

« *Groupe IV.* — La sériation des 9 cas (5 femmes et 4 hommes) a mis en évidence deux sous-groupes : ceux (A_1) qui ont eu un ou deux points iso-électriques compris entre pH 4,5 et 9,3 et ceux (A_2) qui, dans cette zone, n'ont eu aucun point, un point était probable au delà de l'échelle ($>9,3$). La première catégorie A_1 (5 sujets des deux sexes) a correspondu à des surinfections légères sans gravité, sans tendances évolutives. D'après l'aspect des points iso-électriques de ce groupe A_1 se rapprocherait celui des formes fibro-caséuses B_1 dont nous n'avons pu examiner que deux cas, chacun de ceux-ci a en effet présenté deux points : un à pH 5,5 et l'autre à pH 8,5 avec un pN à 7,5. La deuxième catégorie des cas A_2 (4 sujets des deux sexes) a réuni des surinfections très graves évolutives, infiltrant largement un poumon ou les deux. De celle-ci s'est rapproché le groupe B_2 des formes ulcéro-caséuses, dont nous avons examiné 3 cas qui ont montré un point α vers ou au delà de pH 9,3 (avec un point β vers pH 5,2 dans l'un des cas). Le pouvoir alexique, mesuré seulement dans quelques cas de ces diverses catégories du groupe IV a varié entre 100 et 150.

« *Groupe V.* — Des 3 cas du cinquième groupe, deux (1 homme et 1 femme) ont présenté un point α entre pH 5,2 et 6,8 avec un point au delà de 10. Le troisième (homme) ayant en plus une tuberculose fibreuse des deux sommets, a montré un point α au-dessous de 3,5. Le pouvoir alexique a varié entre 100 et 200.

« *Conclusion.* — Nos résultats paraissent donc en plein

accord avec ceux de VLÈS et de DE COULON d'une part et avec ceux de L et H. CARVALHO d'autre part.

« Nous attirons l'attention sur le parallélisme qu'il y a entre l'aspect de la cataphorèse du sérum des adultes à cuti-négative avec un point α unique vers pH 8-9 et celui qu'il prend avec le même point déplacé vers les pH élevés, dans les états anergiques créés par diverses infections aiguës ou chroniques, tandis qu'au contraire, l'état allergique sans tuberculose évolutive se caractérise par la fixité du point α vers pH 5 (BERNSTEIN, *C.R. de la Soc. de Biol.*)

b' — Point iso-électrique et syphilis

Les sérums de syphilitiques se caractérisent pour VLÈS et DE COULON qui les étudièrent en 1925-1926, par le fait qu'il n'y a plus aucun point iso-électrique dans la zone normale entre pH 5 et pH 6. Quelques points α ont été notés entre pH 6 et pH 7, mais souvent on ne trouve aucun point iso-électrique dans la zone de pH employée (5-12,5). Le point γ est soupçonné par extrapolation au-dessus de 12,5 le plus souvent; le point β est également soupçonné par extrapolation au-dessous de pH 5. La caractéristique des sérums masculins syphilitiques semble donc être « la remontée du point α et la raréfaction des points iso-électriques ».

VLÈS et DE COULON émettaient à nouveau une hypothèse qu'ils avaient déjà exprimée à l'occasion d'un travail antérieur. Le « changement de signe des globulines » du sérum syphilitique (KOPACZEWSKI, VERNES, MEINICKE, SACHS-GEORGYI, etc...) peut-être même les réactions du type Wassermann n'étaient-elles pas en rapport avec les modifications du point iso-électrique constatées par les précédentes cataphorèses? ROSSIER reprenait alors cette étude et arrivait aux conclusions suivantes. Chez les malades atteints de syphilis secondaire, on trouve dans tous les cas un parallélisme constant entre les variations des valeurs de la réaction de Vernes, les évolutions du point α dans l'échelle des pH et la vitesse de sédimentation des globules rouges. Tous trois ont des valeurs élevées au début de l'observation et s'abaissent rapidement sous l'influence du traitement spéci-

fique en tendant vers la normale. A la période de syphilis tertiaire, au contraire, il n'y a aucun parallélisme entre la réaction de Vernes et le point α . Alors que la réaction de Vernes reste relativement élevé, le point α n'est que peu décalé. La vitesse de sédimentation est aussi au voisinage des chiffres de l'individu normal. Ces malades étaient, d'ailleurs, insensibles au traitement spécifique. Chose curieuse, l'influence de celui-ci n'était favorable que dans la mesure où le décalage du point α était accentué, ce qui arrivait à titre exceptionnel pour quelques cas de syphilis tertiaire.

C' — Point iso-électrique et cancer

Nous ne ferons que rapporter brièvement les conclusions de VLÈS et de COULON parues dans les *Archives de Physique Biologique* de novembre 1926. Cette question a subi dans les années suivantes un développement considérable ; nous renvoyons aux pages qui traitent de l'utilisation de la notion de point iso-électrique dans la thérapeutique du cancer.

Chez les hommes « le point α est très irrégulier et oscille des deux côtés de la zone normale : il a tendance à monter. Dans les cas très avancés, toute la zone médiane de pH est souvent vide et le point α a disparu. »

Chez les femmes « le point α paraît beaucoup plus régulier que chez les hommes : il se maintient au voisinage de 6,5 ; les oscillations deviennent beaucoup plus grandes dans les cas inopérables ; on finit par avoir comme chez les hommes, absence de point iso-électrique entre 4 et 12,5 ».

B. — UTILISATION EN BIOLOGIE DE LA VARIATION DES POINTS ISO-ELECTRIQUES

a) Valeur diagnostique du point iso-électrique

Il faut reconnaître qu'à l'heure actuelle, l'étude du point iso-électrique n'a jamais encore paru avoir une valeur diagnosti-

queque. Les points iso-électriques peuvent être aussi bien influencés par un simple furoncle, un coryza que par une rougeole, une typhoïde, un choc opératoire (BERNARD, *Thèse Strasbourg*). Les déplacements peuvent être de même amplitude pour des maladies de caractères si différents. « Le déplacement du point α dans l'échelle des pH est un processus biologique dépourvu de spécificité qui, par son universalité, doit être rapproché des réactions générales de l'organisme telles que les réactions thermiques, les variations de la formule leucocytaire, etc... » (ROSSIER). Pourtant, il ne serait pas impossible qu'éventuellement une application diagnostique ne fut possible. Le hasard a montré un cas de fracture où l'examen du sérum indiquait par le décalage des points iso-électriques une intercurrence d'une infection aiguë que la clinique devait confirmer par la suite.

b) Valeur pronostique du point iso-électrique

Inutilisable au point de vue diagnostic, la recherche des points iso-électriques d'un sérum donné paraît être plus utilisable au point de vue du pronostic, quoique la grandeur du déplacement (exception faite peut-être pour la tuberculose) ne paraît pas avoir de rapport avec la gravité de l'infection. ROSSIER a vu guérir des pneumonies dont le point α était situé au-dessus de pH 12,5 alors que mourraient des typhoïdes où le décalage de α n'était que de quelques unités.

Cependant, si l'on donne au terme « pronostic » le sens d'évolution immédiatement prochaine d'une affection et non sa détermination éloignée, il faut reconnaître que la valeur pronostique peut devenir importante. Les signes donnés par les pH_i et leurs variations ont un aspect particulier dans une affection donnée et leurs altérations précèdent souvent les modifications cliniques. C'est l'aspect des modifications du « spectre de cataphorèse » (VLÈS) qui est un renseignement utile pour suivre l'évolution d'une maladie. C'est *une indication*

de modifications humorales intercurrentes, non encore traduite par des symptômes cliniques apparents. Un fort déplacement de α évolue souvent, par exemple, parallèlement à un état clinique grave et l'absence répétée des points iso-électriques dans la zone des pH habituels est souvent l'indice d'une issue fatale. De plus, ROSSIER n'a-t-il pas mis en évidence l'importance de la détermination conjuguée de la vitesse de sédimentation des globules rouges, des points iso-électriques et de la réaction de Vernes dans la syphilis non compliquée. En effet, si l'on connaît la valeur du Vernes, la vitesse de sédimentation ou l'étendue du décalage des points iso-électriques, il est possible de prévoir approximativement l'influence du traitement spécifique sur la maladie. Si l'on trouve une valeur élevée de ces trois données, on voit le Vernes, mesure quantitative de l'infection syphilitique s'abaisser rapidement et tendre vers la normale. Par contre, si l'on trouve une réaction de Vernes élevée ou non, mais coexistant avec une vitesse de sédimentation normale ou sub-normale et des points iso-électriques peu ou pas décalés on peut prévoir que le Vernes ne sera que peu ou lentement influencé par le traitement spécifique.

DONC PAS DE RENSEIGNEMENTS INTÉRESSANTS SI L'ON CHERCHE A TIRER UNE INDICATION PRONOSTIQUE DE LA COMPARAISON DU DÉCALAGE DES POINTS ISO-ÉLECTRIQUES DANS DEUX MALADIES OU CHEZ DEUX INDIVIDUS DIFFÉRENTS, MAIS INDICATIONS PRONOSTIQUES TRÈS UTILES SI L'ÉVOLUTION DES POINTS ISO-ÉLECTRIQUES EST ÉTUDIÉE CHEZ LE MÊME INDIVIDU AU COURS DE LA MÊME MALADIE.

c) Point iso-électrique et thérapeutique du cancer

Dans le domaine de la thérapeutique, la notion de point iso-électrique paraît avoir indiqué des directives nouvelles, qui, aux premiers essais, s'avèrent particulièrement fécondes.

Nous voudrions signaler particulièrement le labeur immense entrepris à l'Institut de Physique Biologique de Strasbourg, en collaboration avec le centre anticancéreux de Lausanne, où l'étude des pHi allait amener VLÈS et son école à aborder le problème du cancer par le terrain physico-chimique.

La constatation des variations des points iso-électriques sous l'influence des phénomènes physiologiques ou pathologiques fit rechercher la possibilité d'introduire des variations expérimentales dans un sens voulu et d'étudier les effets de cette variation. VLÈS et DE COULON mettaient alors au point une technique expérimentale qui par l'injection de substances, n'étant pas des antigènes au sens immunologique du mot (essence de térébenthine, poudres inertes d'émeri ; poudre de corindon pur, poudre d'or, poudres de charbon), permettait de faire varier à volonté et dans un sens déterminé les points iso-électriques musculaires de la souris saine.

Il était logique de chercher ensuite si l'on ne pouvait pas par ce phénomène agir sur l'évolution des tumeurs cancéreuses de la souris et de s'opposer à leur évolution en déclenchant dans l'individu une force contraire à celle qui apparaissait du fait de la tumeur et qui paraissait accompagner son développement. Les expériences furent concluantes et après des essais de corps différents, on s'aperçut, en examinant en particulier les acides aminés, qu'ils se divisent en deux groupes, les uns se comportant comme accélérateur de la réceptivité aux greffes cancéreuses, les autres comme inhibiteur de cette même réceptivité.

Cet ensemble de recherches sur la réceptivité mettait en lumière l'influence d'une préparation physico-chimique du terrain sur la prise ou l'inhibition des greffes de tumeurs.

On s'attaqua ensuite au cancer expérimental du goudron et l'on étudia l'action sur cette tumeur, des acides aminés du groupe inhibiteur.

On a pu définir ainsi un mélange de certains acides aminés (cystine, alanine proline) qui était susceptible d'amener des régressions histologiques et mêmes des disparitions complètes

de tumeurs. Alors que les témoins non traités fournissaient 64 % d'aggravations histologiques de la tumeur, 36 % de stationnaires, mais aucun cas d'améliorations, les souris traitées n'avaient plus que 10 % d'aggravations, 30 % de stationnaires et 60 % d'améliorations dont 24 de disparitions totales. Ce résultat est particulièrement intéressant. Si l'on excepte les rayons X, il ne semble pas y avoir à l'heure actuelle d'autres techniques qui donnent des résultats quantitativement de cet ordre, sur le cancer de goudron considéré comme très difficile.

Les survies de souris débarrassées de leur tumeur se sont avérées petites, mais l'examen des modalités du problème a fait comprendre que pour des animaux déjà très vieux et sous le coup de l'énorme intoxication chronique par le goudron, jointe à celle de la lyse brutale de la tumeur, une fragilité particulière vis-à-vis de facteurs accidentels ne devait pas être inattendue.

Des essais pour traiter des tumeurs spontanées de souris par les mélanges d'acides aminés qui avaient réussi sur le cancer du goudron, donnèrent des résultats médiocres au début. Il semblait manquer un facteur que la suite des études allait mettre en évidence.

On constatait bientôt que si l'on remplaçait l'injection sous-cutanée par une simple ingestion des acides aminés intéressants, mêlés à l'alimentation ordinaire des animaux, ces acides conservaient leur efficacité. Il y eut des disparitions totales de tumeurs par ce procédé simplement alimentaire. « Ceci mettait le problème sur un plan nouveau et éveillait des rapprochements inattendus ; VLÈS et DE COULON prononçaient à cette occasion (août 1930) le mot de « carence » qui s'imposait et ouvrait une voie.

« Or les acides aminés qui étaient efficaces en addition à l'alimentation des souris n'étaient pas particulièrement déficients dans les protides de cette alimentation. S'il y avait une déficience, elle devait donc être dans le mode d'utilisation de ces protides par l'organisme. D'innombrables hypothèses

pouvaient évidemment être soulevées à ce sujet : déficiences de l'hydrolyse digestive par des actions diastasiques aberrantes, altérations des réactions (pH, rH, etc..) du contenu intestinal, où même en dehors du tube digestif, défauts des mécanismes d'utilisation dans des synthèses postérieures. » VLÈS et DE COULON essayèrent de compenser ces déficiences hypothétiques.

« Différentes substances furent introduites dans l'alimentation des souris. Certaines, comme les poudres de diverses portions de la paroi du tube digestif (muqueuses d'estomac, de duodénum et d'intestin grêle, pancréas de porc) déprimèrent la cancérisation ; d'autres organes en poudre, par contre (foie) eurent, au contraire, un effet accélérant. « Cette action dépressive pourrait être considérée comme favorable à l'idée de la compensation d'une diastase, mais il est apparu que les portions utiles pouvaient encore être efficaces après avoir été chauffées à 100° ; l'élément intéressant paraissait être thermostable et par conséquent il fallait plutôt penser, soit à un coferment, soit à une hormone. Un autre groupe d'actions dépressives nous a été donné par des poudres de glandes endocrines ; sur ce dernier sujet, nous trouvions déjà de copieuses indications dans la littérature, mais il nous a été indispensable de les reproduire avec notre méthode particulière. Nous avons retenu quatre glandes endocrines dont les poudres amortissaient assez profondément des courbes de cancérisation ; l'hypophyse, le testicule, la surrénale et aussi la thyroïde à laquelle on accorde usuellement un rôle de mordanceur commun pour les divers systèmes hormoniqes » (VLÈS et DE COULON, *A.P.B.*, décembre 1933).

Le traitement du cancer spontané de la souris qui n'avait donné que de médiocres résultats dans les expériences antérieures avec les acides aminés seuls, fut repris en sommant l'action de ces différents produits.

« Les résultats ont été immédiatement bien supérieurs et sur 24 souris mises au total en traitement, 10 ont fait complètement disparaître leur tumeur. A Strasbourg, où le traitement était intensif, la disparition des tumeurs a demandé

10 à 12 jours, le traitement a donc été d'une brutalité extrême et de fait, la survie des souris a été faible ; à Lausanne sur des tumeurs plus jeunes, on a pu ménager davantage les doses et allonger le traitement, il y a eu des exemples de survies relativement longues atteignant 40 jours.

Ainsi donc la technique à laquelle a abouti la longue série de recherches dont nous avons donné les principes plus haut, a permis de réaliser sur une certaine forme de cancer spontané de la souris, près de 4/10^e de disparitions.

Il était naturel de chercher à retrouver sur l'homme une trace des actions frénatrices obtenues sur la souris.

Nous citons textuellement ces essais sur l'homme tels que VLÈS et DE COULON les ont décrits dans les *Archives de Physique Biologique* de décembre 1933. Ils sont trop passionnants et trop précis pour risquer de diminuer la portée de ces faits par un résumé maladroit.

« Déjà avec le mélange d'acides aminés seuls, quelques essais avaient été faits sur l'homme. Mais outre que la technique s'en présentait comme compliquée (introduction sous la peau du ventre d'une masse de plusieurs grammes de pastilles ou de pâtes d'acides aminés), les premiers effets sur les tumeurs étaient médiocres et fugaces. Un seul cas avait pu être poussé jusqu'à la disparition complète de la tumeur, mais l'application intercurrente de rayons X n'avait pas permis d'interpréter l'origine réelle de la régression. *Cependant des baisses importantes des points iso-électriques des sérums, condition théorique de la réaction, avaient été observées sur tous les malades.* »

« Avec les nouvelles directives qui nous avaient conduits à traiter les tumeurs spontanées de la souris, de nouvelles recherches ont été entreprises dans le service anticancéreux du Professeur GUNSETT, en donnant aux malades, cette fois par voie buccale, des mélanges, acides aminés n° III B (cystine, proline alanine) — poudre d'éléments du tube digestif (muqueuses de l'estomac, du duodénum, du début du grêle, et pancréas) — des endocrines en petites quantités (thyroïde, testicule hypo-

physe surrénale — auxquels on avait joint une petite quantité de poudre de peau, jouant des rôles secondaires (par exemple par la richesse en cystine des bulbes pileux); les malades que l'on devait mettre en traitement, tous arrivés à l'extrémité de l'évolution de leur affection, après insuccès des thérapeutiques usuelles, représentaient, bien entendu, les plus mauvaises conditions au point de vue expérimental.

Les statistiques actuelles sont assez réduites, beaucoup de ces malades qu'on avait commencé à traiter ayant quitté le service sans attendre que se dessinât un résultat. Un premier groupe de trois malades, mis en route au mois de novembre 1932, a donné des résultats intéressants; si l'on excepte l'un d'eux, mort au tout début du traitement (1 mois 1/2, à peine 9 grammes de substances absorbées), par l'intercurrence d'une autre affection antérieure (néphrite), les 2 autres cas ont présenté, au cours d'une observation d'un an (140-150 grammes de substances absorbées), des régressions importantes de leurs tumeurs. Un deuxième groupe de 3 malades a été mis en route au mois de juin 1933; l'un d'eux (homme de 82 ans, spinocellulaire de la bouche) est décédé de cachexie après 4 mois 1/2. Un autre (mélanosarcome du pied), a fourni une importante régression que nous décrirons plus loin, le dernier (spinocellulaire de l'amygdale) a abandonné le traitement malgré une apparence de régression. Enfin un dernier groupe, mis en route au mois d'août, est trop récent pour qu'on puisse en tirer des conclusions. Trois des cas méritent d'être rappelés sommairement (observation de VLES et GUNSETT) :

L'un d'eux est, chez une femme de 47 ans, un sarcome ulcéré du cuir chevelu, ayant perforé la table de l'occipital, récidivant depuis plusieurs années, malgré des exérèses chirurgicales et finalement des irradiations énormes (9.700 r). Au bout de quelques mois de traitement par le mélange à base d'acides aminés, la masse générale du sarcome a disparu, la plaie diminuée, ramenée à des petites dimensions; cette femme a engraisé de plusieurs kilos et se trouve dans un bon état général. Des biopsies faites au cours de l'année sur le fond de la plaie ont été irrégulièrement, les unes positives, les autres négatives, il subsiste donc encore probablement des bourgeons sporadiques isolés de sarcome. Au bout d'un an de traitement la malade se présente en excellent état général, avec une forte augmentation de poids et ayant repris toute son activité (1) (Voir Planche I).

(1) Encore vivante en 1935.

Le second cas est celui d'un épithélioma spinocellulaire, atypique de la face chez une femme de 82 ans. La tumeur péri-auriculaire ulcérée, est une troisième récurrence, après exérèse chirurgicale et traitement radiothérapique intensif. Au bout de 3 mois de traitement à base d'acides aminés, la tumeur a été réduite à une plaie plane, rétrécie, inodore. Après une période de plusieurs mois d'état satisfaisant, vers le neuvième mois a reparu un début de bourgeonnement sur les bords de la plaie, pendant que du côté opposé de la tête s'individualisait un petit baso-cellulaire. La malade abandonna le service; 12 mois après le début du traitement, après une survie inespérée, elle mourut subitement (Voir Planche II).

Le troisième est un mélanosarcome du pied chez un homme de 58 ans, grosse tumeur noire du volume d'une orange, ayant résisté à une irradiation de 6.000 r.; les ganglions (poplité, triangle de Scarpa) sont pris. Au bout de 2 mois de traitement, la tumeur commence à diminuer, au troisième mois, elle se dépigmente et après 4 mois elle se recouvre, comme une cicatrisation banale, de bourgeons épithéliaux partis de la peau périphérique. Le ganglion poplité, autrefois gonflé est à peine sensible. La régression est au bout de 7 mois presque complète. Le seul accident présenté par le malade a été une crise nerveuse qui avait fait songer à une métastase cérébrale, mais dont tous les symptômes ont rapidement régressé. Le malade est à l'heure actuelle en bon état général avec une plaie du pied très diminuée, et une augmentation de poids de plusieurs kilos (2).

De l'ensemble des cas qui ont été examinés depuis le début de ces recherches, un certain nombre de remarques sont nées.

Les premiers effets du traitement par la voie buccale paraissent consister dans tous les cas, en une excitation locale de la tumeur et d'un territoire un peu plus grand que celle-ci (territoire de cancérisation imminente) lequel subit une poussée néoplasique, puis est le siège d'une nécrose brutale. Il a fallu mettre sur pied une technique de nettoyage (au Dakin dilué, puis pansement sec avec le mélange d'acides aminés III B.) pour parer à la putréfaction des tissus nécrosés.

(2) Décès en 1934 par métastase cérébrale.

Les divers types histologiques de cancers que le hasard nous a adressés ne semblent pas équivalents au point de vue de la réponse au traitement : le type sarcome, même mélanique, semblant plus sensible que, par exemple, le spinocellulaire ; il y aura probablement, par la suite, des questions spécifiques à préciser.

Il faut enfin noter qu'aucun des malades n'a encore été suivi jusqu'au bout de sa régression, et que l'on doit faire des réserves expresses sur la terminaison du traitement. Si même les hypothèses que nous avons faites sur les déficiences sont exactes, il semblerait que ce traitement ne doive jamais finir et que le malade doive continuer les compensations après la disparition de la tumeur ; il est possible que la guérison clinique ne soit pas la guérison physiologique de l'organisme, pas plus que le traitement du diabète par l'insuline n'est la guérison du pancréas du malade.

Ainsi donc, on a retrouvé, sur l'homme, avec la technique suivie, au moins des traces des effets frénateurs sur les tumeurs que l'expérience nous avait montrées exister sur la souris. Il est évident que les résultats obtenus, quoique encourageant à continuer les essais, n'ont, pour le moment, rien d'une véritable thérapeutique du cancer et n'ont pas eu la prétention d'apporter une solution définitive de ce problème tant cherché. Mais peut-être que d'autres travailleurs pourraient, un jour, tirer, des quelques données que nous avons apportées au cours de ces dix années, une base dans la voie de recherches à venir : en présence d'un problème aussi grave que celui du cancer, tous les documents, de quelque origine qu'ils soient, doivent être mis en commun, et les perfectionnements ne peuvent être que l'œuvre de tous. »

Nous avons insisté sur les travaux du professeur VLÈS et de ses collaborateurs, pour montrer vers quels horizons nouveaux et pleins de promesses, entraînait l'étude des points isoélectriques.

Nous étions partis de notions très théoriques, protéines, variabilité des points isoélectriques sous des influences diver-

ses, etc., etc... et insensiblement, nous sommes arrivé en pleine pathologie humaine.

Il serait facile d'esquisser quelle lumière ces nouvelles données scientifiques projettent sur différents problèmes de Biologie ou de Pathologie humaine, mais nous serions entraîné hors des limites que nous nous sommes fixé. Nous préférons aborder immédiatement la description des techniques qui permettent d'obtenir les points isoélectriques des protéines.

CHAPITRE II

LES TECHNIQUES RELATIVES A LA CATAPHORESE

SOMMAIRE

§ I. — *Pile à Hydrogène*. — A) Théorie relative à la pile de concentration ; B) Description de la pile à Hydrogène (type Vlès-VELLINGER) ; C) Construction de l'élément au calomel ; D) Mesure de la f.e.m. de la pile à Hydrogène. § II. — *Pile à électrode d'antimoine* — A) Théorie relative à la pile à électrode d'antimoine montée en différentiel ; B) Description de la pile à électrode d'antimoine montée en différentiel (type Vlès-Vellinger) ; C) Confection des électrodes d'antimoine ; D) Mesure de la f.e.m. de la pile à antimoine ; *a)* Détermination du paramètre ; *b)* Confection des tampons à pH déterminés nécessaires à une cataphorèse ; *c)* précision de la méthode ; *d)* Accidents survenant au cours d'une mesure. § III. — *Techniques relatives à la cataphorèse*. § IV. — *Recherche du pouvoir alexique du sérum*. — A) Relations entre les pH_i et le pouvoir alexique ; B) Technique de recherche du pouvoir alexique.

Le précédent chapitre nous a permis de définir le point iso-électrique des protides, d'en montrer les principales variations au cours des états pathologiques et de laisser prévoir l'intérêt biologique de cette notion. Ce deuxième chapitre a pour but de décrire les différentes opérations dont la succession aboutira à la détermination et à la vérification d'un point iso-électrique.

Nous sommes entrés volontairement dans les plus petits détails. Une telle minutie pourra peut-être faire sourire. Peu

importe. Les faits « supposés connus » sont souvent complètement ignorés de l'expérimentateur et l'omission d'un seul d'entre eux suffit parfois à fausser ou même à rendre impossible toute une série de manipulations.

Le lien qui relie les différents paragraphes de ce chapitre paraîtra fragile à plusieurs ; il répond cependant à la succession chronologique des manipulations.

Pour déterminer un point iso-électrique, il faut d'abord une pile à l'hydrogène ; les manipulations relatives à la confection de son élément au calomel ; la mesure de la force électromotrice d'une solution avec cette pile ; telles seront les subdivisions de ce premier paragraphe.

Le but de cette pile à hydrogène est de mesurer avec précision les solutions de référence destinées à étalonner la pile à antimoine dont nous avons besoin pour confectionner rapidement les tampons à pH déterminés, nécessaires pour une cataphorèse.

Aussi, dans ce deuxième paragraphe, après avoir énoncé la théorie relative au montage en différentiel, décrira-t-on la pile à antimoine, les manipulations relatives à la fabrication des électrodes d'antimoine, la mesure de la force électromotrice de la chaîne formée par cette pile et les solutions tamponnées à pH différents.

Une brève description des appareils de cataphorèse et un exposé des précautions à prendre pour réussir une cataphorèse occupera le troisième paragraphe.

Nous sommes, maintenant, en possession d'un « spectre de cataphorèse ». Certains points sont peut-être difficiles à identifier ? Certains décalages nous paraissent excessifs ; sont-ils exacts ? Cette question appelle la description des techniques relatives au contrôle de la cataphorèse par sa comparaison avec le pouvoir alexique du sérum. Ce sera le sujet de notre dernier paragraphe.

Pile à hydrogène

A. — THEORIE RELATIVE A LA PILE DE CONCENTRATION

La mesure du pH d'une solution par la méthode électrométrique se fait au moyen d'une pile de concentration dont on mesure la différence de potentiel.

La formule appliquée est la suivante (formule de NERNST) :

$$E = m \frac{RT}{nF} \lg \frac{c^2}{c_1}$$

dans laquelle :

R = Constante des gaz parfaits.

T = Température absolue.

F = Faraday (96.500 coulombs).

n = Nombre de valence des ions intéressés, 1 si les concentrations sont notées en équivalents.

M = Module de passage de Lge au log 10 = 2,30.

On peut donc connaître la concentration c_2 des ions d'une des solutions si on connaît la concentration c_1 des ions de l'autre et la différence de potentiel entre les extrémités d'une chaîne réalisée avec les deux solutions et deux électrodes du métal du sel.

La construction des piles de concentration, en raison de la constitution nécessaire des électrodes, présente des difficultés particulières lorsqu'on veut étendre la méthode pour doser des ions qui n'existent à l'état atomique ou moléculaire que sous forme de métalloïdes gazeux.

On tourne la difficulté par le procédé suivant, qui consiste à réaliser une électrode à gaz dans laquelle on imprègne d'hydrogène une électrode métallique poreuse insoluble (lame de platine platinée. Le noir de platine recouvert d'hydrogène possède en effet les mêmes propriétés électro-motrices que s'il était constitué par de l'hydrogène). Le montage nécessite un barbotage de gaz continu qui renouvelle constamment celui-ci au contact de l'électrode métallique.

Cette électrode à hydrogène réalisée on pourrait connaître la concentration en ions H^+ d'une solution en construisant une chaîne.

Electrode à gaz	Solution d'H ⁺	Solution d'H ⁺	Electrode à gaz
H ² , P t	c ₁	c ₂	H ² , P t

et en appliquant la formule ci-dessus énoncée à condition de connaître la concentration d'une des solutions, par exemple c_2 ; ceci implique par conséquent la nécessité de posséder avant toute mesure une solution déjà titrée en ions H⁺ soit une solution normale $c_2 = 1$. Or ceci n'est pas directement réalisable. On tourne cette difficulté en remplaçant la portion de la chaîne.

Solution d'ions H ⁺	Electrode à gaz
c ₂	H ² , P t

par une électrode au calomel, prise comme étalon arbitraire, en admettant qu'elle équivaut à une électrode à hydrogène normale ($c_2 = 1$), après la simple introduction d'une correction qui est la force électromotrice de l'élément Hg - Hg² Cl² - KCl (introduit dans l'électrode à calomel); elle est fonction de la température et de la concentration du KCl de l'électrode.

On a donc la chaîne réelle :

P t, H ²	Solution d'ions H ⁺	Solution de KCl	Calomel Hg, P t
Electrode à gaz			Electrode au calomel

Dans ces conditions, puisque $c_2 = 1$, on a pour la chaîne totale :

$$E = m \frac{RT}{F} \log \frac{1}{c_1} + \varphi$$

Et par conséquent :

$$pH_1 = \lg \frac{1}{c_1} = \frac{E - \varphi}{\frac{RT}{mF}}$$

$$\text{avec } m \frac{R}{F} = 0,0001983 \text{ (unité CGS) } T = 273^\circ + t$$

$$\text{avec } B = 0,0001983 T \quad \text{c. d. } pH_1 = \frac{E - \varphi}{B}$$

B. — DESCRIPTION DE LA PILE A HYDROGENE VLES-VELLINGER

La pile à hydrogène de VLES et VELLINGER comprend une électrode à courant d'hydrogène dont la particularité est de contenir la pile au calomel, ce qui donne un appareil facilement maniable et simplifie certaine des manipulations.

L'appareil se compose de deux récipients superposés A et B, réunis par un robinet à trois voies C, avec décharge latérale

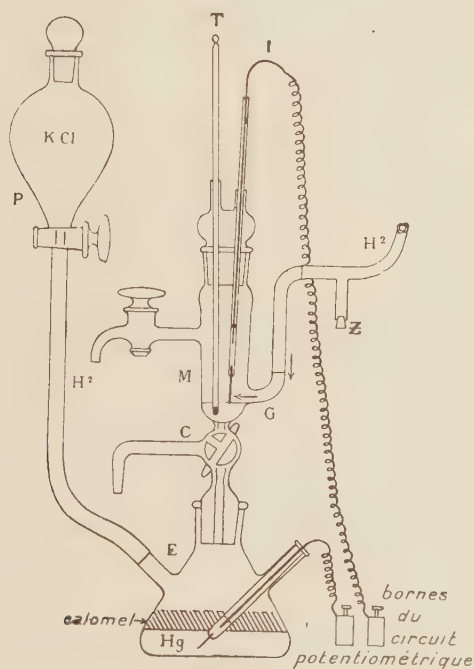


FIG. 5.

rale. Le récipient inférieur B sert d'électrode au calomel (KCl saturé). Son poids en raison de la présence du Hg en fait une base stable pour l'ensemble. Actuellement cet élément est construit en verre moulé, ce qui augmente encore sa solidité et sa stabilité.

Un tube latéral E le met en relation avec un réservoir de K Cl dont le liquide sert à purger éventuellement les voies du robinet et à amorcer le contact avec le récipient supérieur. Un second tube latéral D assure le contact entre le Hg et le fil métallique du circuit potentiométrique.

Le récipient supérieur A contient l'électrode à H. C'est un tube cylindro-conique qu'obture en haut un chapeau de verre traversé par le support de l'électrode métallique I (fil de platine platiné et polarisé suivant la technique usuelle) et par le thermomètre T.

Le tube reçoit environ 3 cc. de liquide qui occupent la portion conique. Un tube latéral G, débouchant au ras de la surface liquide, amène le courant d'H. La sortie du gaz est assurée à la partie supérieure du récipient A par un second tube M dont le débit est réglable par un robinet.

Tout le dispositif électrode et réservoir K Cl est supporté par une console en bois.

Eventuellement l'électrode à H et l'électrode à calomel peuvent être inclus dans un thermostat.

C. — CONSTRUCTION DE L'ÉLÉMENT AU CALOMEL

Toutes les substances, servant à la construction de l'élément au calomel doivent être chimiquement pures.

Les vases auront été lavés au mélange sulfo-chromique, à l'eau distillée, séchés dans l'étuve à l'abri des poussières ; les différents orifices auront été enduits de vaseline blanche neutre.

On introduit alors :

1° Le fil de platine scellé dans une baguette de verre dont la partie supérieure élargie et rodée servira de bouchon. Cette partie rodée aura été préalablement graissée avec de la vaseline neutre, quelques gouttes de mercure auront été introduites à l'intérieur de la baguette de verre pour la lester et pour établir le contact avec le fil de cuivre menant au potentiomètre

Ce fil de platine surtout s'il est neuf aura séjourné pendant plusieurs heures dans l'acide sulfurique concentré.

MICHAËLIS conseille d'amalgamer au préalable ce contact.

« Lorsque l'on se sert d'un fil de platine nu, alors même qu'il est recouvert complètement par le mercure, il peut arriver en effet qu'une couche capillaire de liquide vienne établir le contact entre le fil et la solution qui surmonte le mercure. Ce fait peut avoir pour conséquence une erreur atteignant plusieurs millivolts. On réalise l'amalgamation de la façon suivante. On nettoie le platine dans de l'acide sulfurique concentré, on le lave et on le place comme cathode dans une solution de nitrate mercurieux à 1 % additionnée de quelques gouttes de NO^3H : comme anode, on prend une petite électrode de platine. On fait passer le courant d'un accumulateur (2 volts) pendant un temps très bref environ 1 minute ».

Ce temps suffit pour qu'un peu de mercure adhère au fil. Si le courant passait plus longtemps ou était plus intense, le fil de platine deviendrait très fragile et le mercure n'adhérerait pas mais se réunirait à sa surface en gouttes brillantes.

Cette amalgamation ne paraît d'ailleurs pas nécessaire.

2° On verse le mercure au fond du vase électrode en quantité suffisante pour qu'il recouvre entièrement le fil de platine. Il doit même le dépasser de quelques millimètres.

3° On prépare la pâte au calomel. Dans un mortier en porcelaine on met du calomel en poudre (une bonne cuillerée à soupe environ pour une pile).

Comme nous avons à préparer 3 éléments au calomel, un pour la pile à hydrogène et deux pour la pile à antimoine montée en différentiel, nous mettrons donc trois bonnes cuillerées à soupe. Pendant plusieurs minutes ce calomel sera trituré dans une solution de K Cl saturé. On décantera après quelques minutes de repos. Cette opération très importante sera faite trois fois. Il importe en effet que le calomel soit bien humecté et forme pâte

On ajoutera d'abord une goutte de mercure que l'on triturera jusqu'à ce qu'il disparaisse dans la pâte grise puis on ajoutera ensuite goutte à goutte, tout en le triturant énergiquement, une

quantité de mercure égale environ au tiers de la quantité de pâte au calomel.

4° Cette pâte sera répartie au moyen d'un entonnoir à large orifice dans chacune des piles. On aura soin de remplir les piles progressivement par petites portions en suivant le même ordre et autant que possible en répartissant la même quantité de la pâte mercure-calomel dans chaque pile. Il ne faut pas oublier que l'on cherche à obtenir des piles de même valeur. Si l'on remplissait entièrement une pile avant de passer à la suivante on risquerait et de ne pas mettre la même quantité de produit dans chaque pile, et surtout de voir se sédimenter la pâte pendant cette opération un peu longue, si bien que les proportions du mélange calomel-mercure ne serait plus les mêmes dans la première pile que dans les suivantes.

On arrêtera la répartition de la pâte quand elle atteindra à peu près un centimètre de haut dans chaque pile.

5° Une couche de 1 cm. de cristaux de KCl sera ensuite répartie suivant les mêmes principes.

6° On portera alors à ébullition une solution sursaturée de cristaux de KCl et sans attendre le refroidissement, on en versera quelques centimètres dans chaque pile. Cette solution en se refroidissant brusquement à l'intérieur de la pile forme une croûte solide de cristaux qui contribue à maintenir en place les différentes couches superposées.

7° La solution de KCl saturé sera ajoutée en quantité suffisante pour compléter la pile.

8° Les bouchons rodés seront mis en place après avoir été vaselinés. La flamme d'un bec bunsen sera alors promenée quelques secondes autour des orifices pour que la vaseline en fondant se répartisse mieux et empêche la solution de KCl de remonter par capillarité le long des bouchons. Quand cela se produit, il se forme autour des bouchons un dépôt de KCl déplaisant à voir et surtout pouvant tomber dans une solution à mesurer.

L'élément au calomel définitivement terminé, on évitera de le remuer inconsidérément. Il sera d'ailleurs laissé au repos pendant 48 heures, avant tout usage. Après ce temps, il sera

bon de vérifier l'identité complète des éléments au calomel. Les opérations à faire dans ce but sont exposées à la suite des techniques relatives à la pile à antimoine.

D. — MESURE DE LA FORCE ELECTROMOTRICE DE LA PILE A HYDROGENE

La force électro-motrice d'une pile a pour mesure la différence de potentiel à ses bornes lorsque cette pile ne débite pas de courant. Pour arriver à ce résultat nous opposerons à notre pile à hydrogène une force électro-motrice égale à la sienne. Ainsi elle ne débitera pas de courant et sa force électro-motrice ne diminuera pas puisqu'il ne se produira aucune polarisation, ni aucune variation dans la concentration des électrolytes.

On mettra en circuit avec cette pile un galvanomètre à cadran mobile et on lui opposera à travers ce même appareil indicateur, une force électro-motrice connue de signe inverse dont on fait varier la différence de potentiel jusqu'à maintenir au zéro l'appareil indicateur.

L'appareil dont nous nous sommes servis était un galvanomètre à cadran mobile Chauvin-Arnoux, (suspension à la cardan, résistance de cadre 200 ohms).

Pour la facilité du travail, il importe de grouper les piles, le potentiomètre et le galvanomètre, afin de pouvoir faire les différentes manipulations autour des piles et des appareils de mesure sans changer de place. De plus une obscurité relative est nécessaire pour pouvoir suivre à distance et sans fatigue les déplacements du spot lumineux sur l'échelle graduée. Aussi avons-nous trouvé commode d'installer galvanomètre et règle graduée dans une petite caisse en bois suspendue au mur, au-dessus du potentiomètre (profondeur de la caisse 40 cm.). Pour remédier à la distance trop faible qui sépare le miroir de l'échelle graduée on intercalera une lentille sur le trajet du rayon lumineux.

La différence de potentiel a été mesurée à l'aide du grand potentiomètre Chauvin-Arnoux. Cet appareil contient deux

Pour y arriver, on déplacera les curseurs D et F de manière à avoir une valeur égale à 1.018 millivolts. Le cadran C sera tourné de façon à amener le chiffre 1 devant le repère r. Les curseurs B et H seront ensuite déplacés de façon à obtenir l'immobilisation presque complète du spot lumineux du galvanomètre pour une pression rapide (quelques fractions de seconde) sur le bouton J. Le curseur H servant au réglage fin).

Le chiffre 2 est amené devant le repère pour parachever sur cette pile le réglage de l'accumulateur. Il se constatera par l'immobilité complète du spot. Les deux curseurs B et H resteront alors à la même place pendant toute la durée des manipulations.

On gardera toujours le même ordre dans l'usage des piles étalons : réglage approximatif sur la pile 1, réglage de finesse sur la pile 2. Cette dernière pile conservera sa précision beaucoup plus longtemps puisque jamais elle ne sera soumise à un débit élevé, accident qui peut arriver par inadvertance quand on commence le premier réglage.

La lettre E sera ensuite amenée devant le repère r et les curseurs D et F remis à 0. La mesure de la force électro-motrice de la pile à hydrogène peut commencer.

La pile à hydrogène est d'abord reliée aux bornes du potentiomètre. L'élément au calomel au pôle négatif, l'électrode d'hydrogène au pôle positif.

1° On mettra d'abord en marche le courant d'hydrogène. Celui-ci doit toujours passer pendant toute la durée des manipulations. La pression du gaz s'opposera ainsi au séjour de l'eau dans la tubulure d'arrivée de l'hydrogène. D'ailleurs il faut éviter avec les liquides de lavage ou autres d'atteindre un niveau supérieur à l'orifice d'arrivée d'hydrogène. Si par inadvertance, un peu de liquide pénétrait dans ce tube G on le chasserait en pinçant deux ou trois fois la tubulure en caoutchouc qui joint la pile à la bonbonne d'hydrogène.

2° Le gaz nécessaire aux piles est en effet emprunté à une bombe d'hydrogène comprimé du commerce, munie d'un manodétendeur.

Cet hydrogène doit être pur, exempt de toute trace d'oxy-

gène, de composés arseniés ou d'acide sulfhydrique. On le lave du reste très soigneusement en le faisant passer dans des flacons laveurs contenant :

le premier, une solution alcaline de pyrogallate (v.g. pyrogallate de potasse) ou une solution d'hydrosulfite ;

le second, permanganate de potasse à 2 % acidifié ;

le troisième, chlorure mercurique en solution concentrée ;

le quatrième, une solution de soude ;

le cinquième, de l'eau.

Le courant est réglé à la vitesse de 3 à 5 bulles par seconde.

3° Avant d'introduire le liquide dans le récipient A, on établit la continuité de la chaîne liquide dans les voies du robinet R.

Pour cela, R étant dans la position I (fig. 7), on fait, en actionnant le robinet du réservoir K, monter dans A quelques gouttes de K Cl saturé. On ferme ce robinet K, puis pince le caoutchouc de liaison entre K et E de façon à chasser les bulles d'air éventuelles.

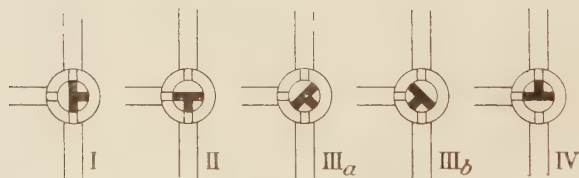


FIG. 7.

4° On procède à la purge du K Cl de la partie supérieure de l'élément au calomel. Le robinet R est mis dans la position II et l'on ouvre le robinet du réservoir K quelques secondes.

5° *Rinçage de A.* — Le robinet R étant mis dans la position III b, on verse dans A de l'eau distillée jusqu'à affleurement du tube latéral F. Puis R est mis dans la position IV pour évacuer par le tube T cette eau dont on laisse une trace à la partie inférieure de A afin de conserver la continuité de la chaîne liquide. On effectue ainsi trois rinçages successifs à l'eau distillée.

L'intérieur de A est ensuite séché au papier filtre.

6° *Introduction dans A de la solution électrolytique.* — Il faut d'abord rincer A avec la solution qu'on désire y introduire pour ne pas modifier sa concentration. La solution de rinçage est évacuée sans oublier la précaution de laisser une trace à la partie inférieure de A pour conserver la continuité de la chaîne liquide.

Le liquide neuf sera introduit ensuite jusqu'à affleurement du tube latéral G : Le robinet R sera mis dans la position III a (La voie principale du robinet étant en contiguïté avec le tube inférieur de A et le tube supérieur de B). Cette position coupe toute communication hydraulique, mais ne gêne en rien l'établissement du circuit électrique qui est assuré par une pellicule de K Cl saturé persistant dans le boisseau du robinet.

7° *Préparation de l'électrode d'hydrogène.* — Le fil de platine conservé dans l'eau distillée depuis la mesure précédente est alors soigneusement décapé avec du « Nab » ou un autre produit similaire. Une pincée de poudre est prise entre le pouce et l'index (directement ou sur un morceau de coton). Le fil de platine est frotté pendant quelques instants en évitant tout ce qui pourrait le rayer ou le tordre.

Mis ensuite dans un récipient contenant de l'acide sulfurique concentré, il y reste dix minutes. Après rinçage sous un jet de pissette, on procédera au platinage du fil.

8° Dans le petit récipient dont l'orifice d'entrée sera suffisamment large pour laisser pénétrer l'électrode sans risque de heurter les parois, auront été mis environ 10 cc. de la solution suivante :

Eau distillée	100 cc.
Acétate de plomb	0,025
Chlorure de Platine	1 gr.

Dans ce liquide, on introduit une petite électrode auxiliaire de platine que l'on relie au pôle positif d'un accumulateur donnant 4 volts.

Le fil de platine est mis en rapport avec le pôle négatif, puis on le plonge dans la solution de chlorure de platine. Il se produit un dégagement gazeux ; en même temps, l'électrode

ne tarde pas à se recouvrir d'une couche noire constituée par le noir de platine. Avec une électrode neuve, il faut cinq minutes environ pour obtenir ce résultat ; avec une électrode ayant déjà servi, une minute suffit. Il faut en effet attendre la coloration « noir brillant » et ne jamais arriver à la coloration « noir mat » qui se produit avec un platinage poussé trop longtemps. Le platinage doit être vérifié avec grand soin, s'il restait une portion de fil même minuscule non recouverte par le noir de platine, il faudrait continuer le platinage quelques instants pour essayer d'effacer ce point défectueux. L'insuccès de cette tentative obligerait à recommencer toutes les opérations par le début ; nettoyage au Nab, séjour dans So^4H^2 concentré, etc. Très souvent d'ailleurs, ce contretemps a pour cause un dégraissage défectueux du fil dès le début des opérations.

9° Le fil de platine est alors rincé à l'eau distillée sans perdre un instant pour éviter qu'il ne sèche dans l'intervalle des manipulations. Il est ensuite introduit dans un récipient analogue à celui dont on s'est servi pour le platinage. Ce récipient contient de l'acide sulfurique dilué. L'anode est formée d'une électrode de platine. Notre fil de platine sert de cathode. On fait passer le courant de façon à saturer l'électrode d'hydrogène. A peine le fil de platine plonge-t-il dans cette solution qu'il se produit un dégagement abondant de fines bulles gazeuses. Aussi est-il conseillé, pendant la durée de l'opération, de tenir en main la baguette qui sert d'armature au fil de platine, afin de pouvoir lui donner de petites secousses, on empêchera ainsi les bulles gazeuses de se fixer sur le fil, ce qui pourrait être cause d'une polarisation incorrecte. (On aura bien soin de ne pas intervertir le sens du courant pendant cette seconde opération ; si cela s'était produit, il faudrait redresser le courant et prolonger ce dernier pendant une vingtaine de minutes ; on se débarrasserait ainsi de l'oxygène absorbé pendant la fausse manœuvre. Le mieux serait encore de recommencer le platinage à son début (nettoyage au Nab, etc.).

10° Retiré de ce second récipient après une minute environ,

le fil est lavé à l'eau distillée, puis avec quelques centimètres cubes de la solution à mesurer ; la baguette de verre est essuyée au papier filtre. L'électrode de platine est alors prête à servir. Elle est placée dans le récipient A près du tube d'arrivée de l'hydrogène. La pointe est enfoncée dans la solution électrolytique sur un ou deux millimètres. Les connexions sont établies avec le potentiomètre. On attend quelques minutes pour permettre à la solution et à l'électrode de se saturer d'hydrogène.

11° *Mesure de la f. e. m.* — Une première mesure sera alors prise au potentiomètre en déplaçant les curseurs D et F (voir fig. 6), puis on attendra un quart d'heure avant de lire une seconde mesure. La force électro-motrice du système n'atteint pas dès le début sa valeur définitive. Elle commence par croître et n'atteint cette valeur finale qu'au bout d'un temps plus ou moins long qui peut être de l'ordre du quart d'heure pour les solutions de bas pH et quelquefois de l'ordre de plusieurs heures pour des solutions très alcalines. Quelquefois même le plateau est atteint par petits paliers successifs. Aussi faut-il après ce premier quart d'heure faire des lectures toutes les cinq minutes et s'assurer qu'elles ne varient plus. On sera alors sûr d'avoir atteint le plateau cherché. Quand l'immobilité du spot lumineux sera obtenue, on repoussera le curseur F de quelques millimètres à droite ou à gauche. Une nouvelle pression sur J. doit déclencher un déplacement du spot lumineux dans le sens opposé au décalage du curseur. Cette petite manœuvre permettra de vérifier que l'immobilité constatée à la mesure précédente était bien due à l'égalité de force électro-motrice et non à un contact défectueux.

12° A ce moment on remontera l'électrode de platine, elle affleurera la surface du liquide de manière à l'ombiliquer légèrement. Le robinet R qui, depuis le début de la mesure, étant à la position III a, sera mis à la position I. Trois fois, on fera de la surpression à l'intérieur du récipient A en obturant pendant quelques secondes l'orifice M qui assure la sortie de l'hydrogène. Une nouvelle lecture au potentiomètre de quelques millivolts supérieure à celle qui avait précédé cette

manœuvre, donnera définitivement la force électro-motrice réelle de la pile.

La température prise au moyen du thermomètre inclus dans le potentiomètre, on se reportera à la table de pH de VELLINGER, éditée par l'Institut océanographique de Salambo (Tunis). Cette table donne le pH correspondant aux millivolts lus sur le potentiomètre, en fonction de la température.

13° Pour mesurer à la suite le pH d'un autre liquide, il faudrait refaire un nettoyage complet de la pile et de l'électrode de platine que l'on devrait replatiner à nouveau.

Si les mesures sont terminées, tout en maintenant le courant d'hydrogène :

a) on évacuera la solution mesurée par le robinet de décharge C ;

b) on enlèvera le fil de platine qui sera mis à conserver dans SO^4H^2 concentré ;

c) on fera trois lavages à l'eau distillée du récipient supérieur A ;

d) on arrêtera alors seulement le courant d'hydrogène et le récipient A sera bouché pour éviter que des poussières ne s'introduisent dans l'intervalle des mesures.

PARAGRAPHE II

Pile à électrode d'antimoine

A. — THEORIE RELATIVE A LA PILE A ELECTRODE D'ANTIMOINE MONTÉE EN DIFFÉRENTIEL

La détermination du pH au moyen des électrodes d'antimoine n'a été vraiment utilisable dans la pratique, que le jour où VLES a imaginé le montage en différentiel. Celui-ci comprend 2 piles montées en série avec opposition des pôles de même signe. Dans ces conditions l'ensemble a une force électromotrice qui est la différence des forces électromotrices des deux piles.

Dans ces conditions on a :

$$\begin{aligned} \text{pH1} &= 0,0175 (E_1 - E_2) + \text{pH2} \\ &= 0,0175 E + \text{pH2} \end{aligned}$$

Ou plus simplement :

$$\text{pH} = A E + C$$

pourvu que C soit >1 ; C est le pH d'une solution de référence, c'est une constante indépendante des électrodes employées. Pour les commodités du dosage et la facilité de conservation, nous employons de l'HCl N/10, que l'on étalonne en mesurant son pH par voie potentiométrique de l'électrode d'hydrogène.

E est la force électromotrice donné en millivolts par le potentiomètre.

$$A = \frac{\Delta \text{pH}}{\Delta E}$$

C'est un paramètre qui est déterminé par étalonnage (la pente de la droite $\text{pH} x = A E + C$).

Chaque fois en effet qu'une paire d'électrode a été abandonnée à sec ou décapée à nouveau, A, risque de varier. A peut ainsi prendre avec des échantillons d'antimoine différents, dont les diverses particularités de fabrication et d'emploi n'ont pas été identiques, des valeurs comprises entre 0,0175 (valeur théorique) et 0,0213 (valeur la plus grande exceptionnellement observée). Les écarts sont d'autant plus faibles d'une série de mesures à l'autre que les électrodes sont moins neuves.

DÉTERMINATION DU PARAMÈTRE

La détermination de A et la vérification des électrodes se fait à partir de 3 solutions tampons dont les pH ont été préalablement déterminés à l'électrode à hydrogène. Ces 3 tampons sont choisis de façon à décomposer en tranches de grandeurs comparables la zone de pH que l'on désire utiliser. Dans les cas courants, où on ne rencontre pas de pH supérieurs à 9.10, nous employons comme tampons étalons :

1° Une solution de KCl N/10 acidifiée par HCl jusqu'à pH3 (7 gr. 4 par litre).

2° Une solution renfermant 12 grammes d'acide borique + 2 grammes de NaCl au litre, dont le pH est aux environs de 5.

3° Une solution de 19 grammes de borate de Na au litre, dont le pH est aux environs de 9.

Les forces électromotrices des chaînes formées par introduction de ces trois tampons sont mesurées avec la paire d'électrodes à étalonner. Sur un graphique, en fonction des millivolts ainsi mesurés, on porte les pH déterminés à l'électrode à hydrogène, on

complète ce graphique avec le pH de l'HCl N/10 de référence, qui mis dans les deux piles donnerait pour l'ensemble une force électromotrice de 0 millivolt (ou pratiquement ± 1 millivolt). Si les opérations ont été correctement menées, ces 4 points déterminent une droite moyenne avec une erreur au plus égale à $\pm$ millivolt.

L'application de l'expression $\text{pH} = \text{AE} + \text{C}$, nécessite l'identité complète des éléments de la chaîne autres que les solutions. En particulier, les piles au calomel doivent être égales. (Leurs forces électromotrices ne doivent différer au plus que de 2 millivolt). Il est utile de contrôler cette égalité en mettant un tampon quelconque identique dans les deux portions de la chaîne et en vérifiant que la force électromotrice de celle-ci est nulle. En cas de légère différence, on garde celle-ci comme correction constante pour le reste des mesures.

B. — DESCRIPTION DE LA PILE A ELECTRODE D'ANTIMOINE MONTEE EN DIFFERENTIEL (VLES)

Chaque pile est formée d'un élément au calomel dont la forme et la construction ont déjà été décrites plus haut. Cet élément au calomel communique avec le vase supérieur L au moyen d'un tube étroit muni d'un robinet à trois voies. Pour la commodité des manipulations, le vase L2 qui contient la solution de référence, affecte une forme cylindrique avec bec déversoir T à sa partie inférieure. Le vase L2 qui recevra la solution à étudier, affecte la forme d'un entonnoir d'une contenance de 250 cc. environ, muni également à sa partie inférieure d'un bec déversoir T.

L'électrode d'antimoine est elle-même supportée par une tige métallique t. Un butoir « a », sur cette tige support, permet de ramener à la même position l'électrode après l'avoir enlevée pour ajouter à la burette l'acide ou la base destinée à la préparation des tampons et agiter le liquide de l'entonnoir à la baguette.

Pour le montage du circuit, les piles sont réunies par les fils de laiton des électrodes d'antimoine. L'électrode de platine de la pile qui renferme la solution de pH le plus bas (dans la grande majorité des cas, celle qui renferme la solution de

référence) est reliée à la borne — du potentiomètre. Le platine de l'autre pile est relié à la borne +.

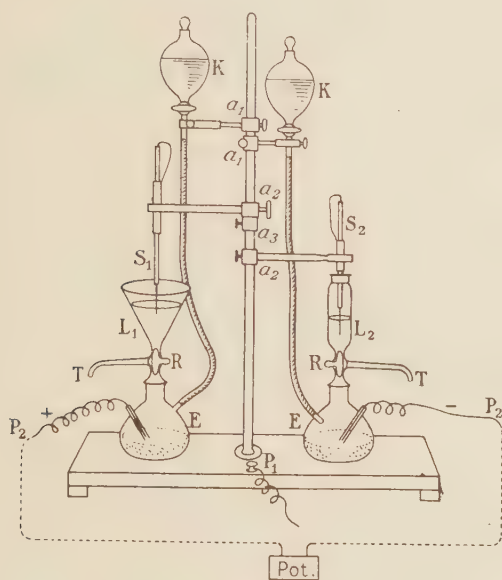


FIG. 8.

C. — CONFECTION DES ELECTRODES D'ANTIMOINE

Nous empruntons textuellement à Mlle GEX (A. P. B., IX, 2) les pages qui vont suivre. Ayant eu à enseigner aux élèves de VLÈS les techniques relatives aux piles à antimoine, GEX a su grouper de manière claire et précise, les différents temps de la confection et de l'emploi de cette pile. Son travail est d'ailleurs maintenant introuvable. Nous espérons que la retranscription fidèle que nous avons faite en bien des endroits de notre étude rendra service à ceux qui désireraient retrouver ce que contenait ce numéro des *Archives de Physique biologique*. Nous lui témoignons ici de nouveau notre reconnaissance d'avoir bien voulu nous former elle-même lors de notre séjour au laboratoire de l'Institut de Physique biologique du Professeur VLÈS à Strasbourg.

Les électrodes d'antimoine que nous employons sont constituées par une baguette d'antimoine de 1,5 à 2 centimètres de long et 2 millimètres environ de diamètre, fondu et trempé, que l'on a soudée à un fil de laiton. La soudure laiton-antimoine est isolée électriquement par un compound isolant, et armée d'une gaine de verre. Nous décrirons les diverses phases de cette fabrication : préparation du compound et mise en gaine.

1° *Confection de la baguette d'antimoine.* — L'opération consiste à fondre au bec papillon, dans un tube de verre, de l'antimoine « pur Poulenc », puis à le tremper rapidement dans un grand récipient d'eau à la température ordinaire. Pendant la fusion, un certain nombre de manipulations sont nécessaires pour homogénéiser le métal, éviter son altération, et le débarrasser de ses scories. Il est avantageux d'opérer comme suit :

Un tube de verre moyennement fusible (verre de Thuringe) de 15 à 20 centimètres de long, lumière de 4 à 5 millimètres, est coudé en son milieu d'un angle très obtus (environ 140°). On introduit de part et d'autre du coude 3 à 4 grammes d'antimoine en fragments concassés, ou mieux en baguettes déjà fondues, et l'on fond en balançant le tube dans la flamme d'un bec papillon. Dès que l'antimoine est fondu, on donne à la pâte dans le tube un mouvement de va-et-vient pour le débarrasser de ses scories qui se collent à la paroi du verre. On poursuit la fusion jusqu'à ce que le métal soit incandescent et très fluide, à ce moment on fait en dehors de la flamme, un second coude à 0 cm. 5 du premier, de façon que le tube ait la forme d'un U. On remet dans la flamme et chauffe fortement entre les deux coudes, puis en inclinant pour que le métal reste à l'un des angles, on étire lentement en dehors de la flamme de façon que la partie étirée soit bien cylindrique, et ait un diamètre d'environ 3 millimètres. Le tube en U devient très évasé et présente à sa partie inférieure deux poches dans l'une desquelles est rassemblé le métal; on fait couler lentement celui-ci dans la portion étirée. Cette dernière une fois remplie, on plonge brusquement le tout dans de l'eau

froide pour la trempe, en maintenant verticales les branches du tube jusqu'à solidification de l'antimoine.

Outre la trempe, l'immersion dans l'eau froide a eu pour effet de faire éclater le verre, on enlève les fragments de celui-ci à l'ongle (et non à la pince métallique qui briserait la baguette d'antimoine rendue fragile par la trempe) et décortique complètement la baguette métallique. On fait alors l'exa-

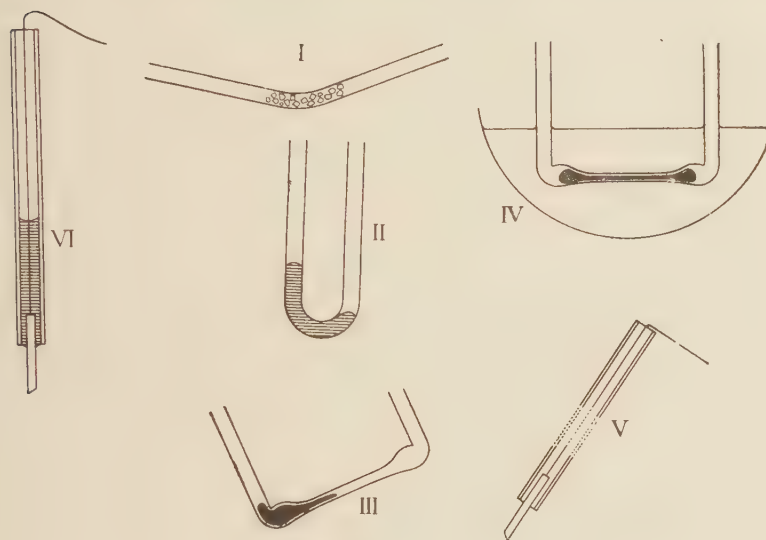


FIG. 9.

men de celle-ci : elle doit pour être utilisable, avoir au moins 3 centimètres de long, être brillante, cylindrique au moins sur une longueur de 2 centimètres dans sa partie médiane ; son diamètre ne doit pas dépasser 0,26 à 0,27 cm. Toute baguette présentant des soufflures ou de nombreuses cavités doit être rejetée comme impropre à la confection des électrodes.

La baguette reconnue bonne, et amputée en cas de besoin de ses extrémités irrégulières et renflées, sera coupée en deux par pression entre les doigts. La coupure se fait le plus souvent suivant un plan de clivage ; ce sont ces plans de clivage qui seront destinés à être plongés dans les liquides, les extrémités opposées seront soudées à des fils de laiton.

2° *Soudure.* — Dans la flamme d'un bunsen, on chauffe au rouge blanc un fil de laiton (longueur : environ 10 cm., diamètre 1 mm.), à ce moment on approche la baguette d'antimoine du bord de la flamme, puis rapidement, en dehors de la flamme, on met les deux tiges en contact en enfonçant le laiton dans l'antimoine. La soudure est ainsi faite.

Si la soudure n'est pas solide et qu'on désire la recommencer, il faut au préalable couper sur une longueur de quelques millimètres l'extrémité du fil de laiton qui a été en contact avec l'antimoine, parce que les alliages formés lors de la précédente opération sont très fusibles et que la nouvelle soudure serait ainsi trop faible.

Pendant que la soudure est encore chaude, y déposer une goutte du compound dont nous donnons la recette plus loin.

3° *Mise en gaine de verre.* — La soudure laiton-antimoine doit être isolée à cause des forces électromotrices parasites auxquelles elle donnerait naissance au contact des solutions électrolytiques, d'autre part, étant fragile, il est indispensable de l'armer. A cet effet, on introduit la tige de laiton-antimoine dans un tube de verre étroit (lumière 4 à 4 mm. 5 de diamètre) en laissant sortir, à une extrémité, la baguette d'antimoine de la moitié de sa longueur et à l'autre quelques centimètres de laiton. La portion d'antimoine incluse dans le tube, la soudure et les trois ou quatre premiers centimètres de laiton qui font suite à la soudure sont noyés jusqu'à complet isolement, dans le compound suivant.

4° *Fabrication et utilisation du compound.* — Dans une capsule de porcelaine, on fond à parties égales paraffine et colophane propres et exemptes de poussières métalliques ou de substances conductrices.

Pour maintenir en place la baguette d'antimoine pendant le remplissage de la gaine avec le compound, il est avantageux de plier à angle droit le fil de laiton au ras du tube de verre. On maintient l'électrode inclinée, l'antimoine vers le bas et au moyen d'une pipette, on verse par le haut de la gaine, quelques gouttes du compound fondu et liquide. Le compound se solidifie au contact du verre froid, on le fait couler jusqu'à

l'antimoine en chauffant la tige de verre avec précaution. Un chauffage trop actif (surtout au niveau de l'antimoine, ce qui changerait en outre les caractéristiques physiques de ce métal) risquerait d'entraîner par un refroidissement trop lent, un écoulement du compound vers l'extérieur, et produirait de plus un retrait considérable lors de la solidification.

Le remplissage de la gaine doit être aussi parfait que possible sans bulles d'air ni fissures, et le compound doit déborder vers l'extérieur du côté de l'antimoine. En effet, pendant les mesures de pH, l'électrode sera en contact avec diverses solutions électrolytiques, celles-ci pourraient monter par capillarité et s'insinuer dans les fissures du compound, de là elles risqueraient de gagner la soudure laiton-antimoine, et d'y créer des forces électromotrices parasites ; la propreté parfaite de l'électrode serait rendue impossible sans un démontage complet de la gaine.

Une première zone de compound ainsi déposée, et fixant la baguette dans le tube de verre, on continue progressivement le remplissage de celui-ci. L'introduction de la totalité du compound ne peut être faite d'un seul coup, car le refroidissement de la masse serait trop lent, et l'on aurait les inconvénients déjà signalés plus haut.

Ainsi préparée, l'électrode est laissée au repos une heure ou deux pour retour à la température ordinaire et solidification définitive, puis elle peut entrer en service » (GEX).

D. — MESURE DE LA FORCE ELECTROMOTRICE DE LA CHAÎNE ET DÉTERMINATION DU pH

a) Détermination du paramètre

Nous allons reprendre par le détail les manipulations nécessaires pour déterminer le paramètre.

1° Avant d'introduire le liquide dans les vases L1 et L2

on établit la continuité de la chaîne liquide dans les voies des robinets R.

Pour cela, R étant dans la position I (fig. 7) on fait, en actionnant le robinet du réservoir K, monter dans L quelques gouttes de K Cl saturé. On ferme ce robinet K, puis pince le caoutchouc de liaison entre K et E de façon à chasser les bulles d'air éventuelles.

2° On procède à la purge du K Cl de la partie supérieure de l'élément au calomel. Le robinet R est mis dans la position II et l'on ouvre le robinet du réservoir K quelques secondes.

3° *Rinçage de L1 et L2.* — Le robinet R étant mis dans la position III b, on verse dans L de l'eau distillée. Puis R est mis dans la position IV pour évacuer par le tube T cette eau dont on laisse une trace à la partie inférieure de L afin de conserver la continuité de la chaîne liquide. On effectue ainsi trois rinçages successifs à l'eau distillée.

L'intérieur de L est ensuite séché au papier filtre.

4° *Introduction dans L de la solution électrolytique.* — Il faut d'abord rincer L avec la solution qu'on désire y introduire pour ne pas modifier sa concentration. La solution de rinçage est évacuée sans oublier la précaution de laisser une trace à la partie inférieure de L pour conserver la continuité de la chaîne liquide.

Le liquide neuf sera introduit ensuite. Dans le vase L2, on mettra la solution de référence (H Cl 1/10 N), dans le vase L1 la première des trois solutions qui servent à déterminer le paramètre (K Cl 1/10 N).

Le robinet sera mis dans la position III a (la voie principale du robinet étant en contiguïté avec le tube inférieur de L et le tube supérieur de E) tout le temps des mesures jusqu'à la vidange suivante.

Cette position coupe toute communication hydraulique, mais ne gêne en rien l'établissement du circuit électrique qui est assuré par un pellicule de K Cl saturé persistant dans le boisseau du robinet.

5° *Décapage des électrodes d'antimoine.* — L'expérience montre qu'une surface fraîche d'antimoine métallique s'altère vite, se ternit, devient grisâtre sous l'action de l'air. Il est donc essentiel d'obtenir un état initial de référence identique pour les diverses électrodes.

Les baguettes d'antimoine seront d'abord décapées en les frottant sur toile émeri n° 00 ; ce grattage doit être fait avec précaution en raison de la grande fragilité de l'antimoine ; le procédé le moins dangereux consiste à frotter tangentielle-ment sur la toile émeri que l'on enroule sur un doigt. Une fois grattées, les électrodes sont essuyées au coton hydrophile, rin-cées rapidement en versant à la surface de la baguette quelques gouttes du liquide dans lequel elles vont plonger (H Cl 1/10 N pour S₂, K CL 1/10 N pour S₁) et plongées aussitôt dans les solutions de leurs piles respectives. Ce décapage suffira pour toute une série de mesures (durée jusqu'à 6-7 heures) à condi-tion de ne pas abandonner les électrodes à sec.

6° *Mesure de la force électromotrice.* — Pendant toute la série des déterminations de pH, l'électrode d'antimoine S₂ qui plonge dans la solution de référence, est laissée en place, de même l'H Cl de référence n'a pas besoin d'être remplacé ; il suffit d'en déverser une goutte toutes les heures environ pour changer la répartition du liquide à la surface de l'électrode.

Dans la suite des mesures, c'est sur l'électrode S1 des solu-tions étudiées que va porter toute notre attention. Pour la toute première solution introduite, il est indispensable d'attendre une maturation des électrodes, on laisse celles-ci au repos pen-dant cinq à dix minutes avant de faire la recherche d'équili-bration de la force électromotrice. Ce temps de maturation écoulé, on sort l'électrode S1 qui baigne dans la solution étu-diée et l'y replonge aussitôt en un point différent, puis on commence la mesure comme suit.

L'équilibration de la force électromotrice n'est pas instan-tanée ; si la manipulation est menée correctement et si la solution examinée ne subit pas de transformation au cours de la mesure, l'équilibre est atteint dans un temps standard de trois minutes (le temps initial étant le moment où l'on a plongé

l'électrode dans la solution) et reste fixé avec un écart permis de ± 1 millivolt pendant les trois minutes suivantes.

Pour suivre l'équilibration, on note à la montre le temps O, moment d'immersion de l'électrode, et l'on équilibre au potentiomètre; de minute en minute on rétablit l'équilibre aux temps 1 et 2 minutes; à partir de ce moment, si tout est correct, la force électromotrice se maintient sur un plateau (à ± 1 millivolt près) jusqu'au temps 5. En principe, il serait nécessaire de chercher six fois l'équilibre, pratiquement une longue expérience nous a prouvé que si le plateau est atteint à la troisième mesure et si sa fixité est vérifiée à la quatrième mesure, il se maintient à la même valeur au moins pendant les mesures des deux minutes suivantes. Inversement, si l'équilibre n'est pas atteint à la quatrième mesure ou s'il n'est noté qu'après les six premières mesures, sa valeur doit être suspectée. Dans un chapitre suivant, nous indiquerons la conduite à tenir dans le cas où l'équilibre tarderait à se fixer dans le temps standard.

7° Le chiffre lu sur le potentiomètre est alors noté et la solution de K Cl évacuée.

Il faut procéder à un triple nettoyage de L1 avant d'introduire la deuxième solution.

On dirigera également avec un jet de pissette un jet d'eau distillée sur la baguette d'antimoine qui sera ensuite essuyée au papier filtre (baguette et armature) pour éviter qu'une goutte d'eau distillée ne vienne pas retomber dans la solution suivante, au cours des mesures.

L'intérieur de L1 sera également séché au papier filtre après que l'on aura évacué l'eau de lavage tout en songeant à maintenir la continuité de la chaîne liquide.

Mais la tige d'antimoine, si parfaite soit-elle à l'œil nu, possède de petites anfractuosités impossibles à nettoyer par un simple jet de pissette. VLÈS et Ugo ont vu que pour substituer une solution à une autre solution de pH différentes de plusieurs unités, il était nécessaire de faire jusqu'à une dizaine de rinçages à l'eau distillée. Pour d'aussi grands écarts de pH utilisés successivement, GEX préconise le procédé rapide suivant.

L'électrode et le vase L1 sont, comme il est dit plus haut, lavés trois fois à l'eau distillée, puis une fois avec la solution tampon suivante (solution d'acide borique de pH aux environs de 5). On mesure alors approximativement la force électromotrice au contact de celle-ci, puis on jette et remplace par une nouvelle portion fraîche dont on mesure la force électromotrice. Comme GEX s'en est assuré empiriquement par un grand nombre de mesures, il est inutile de poursuivre les rinçages à partir du moment où les deux forces électromotrices diffèrent de moins de 7 millivolts. De plus, une mesure préalable d'une force électromotrice approchée amortit les irrégularités éventuelles d'équilibration comme VLÈS l'a déjà signalé.

8° Les mêmes manipulations sont faites pour déterminer la force électromotrice de la troisième solution (borate de soude — pH avoisinant 9).

9° Comme il a été dit plus haut, on porte sur un graphique en ordonnée, les millivolts lus au potentiomètre, en abscisse le pH correspondant déterminé à l'électrode à hydrogène: On complète ce graphique avec le pH de la solution de référence H CL 1/10 et si les opérations ont été correctement menées, quatre points déterminent une droite moyenne avec une erreur égale au plus à ± 1 millivolt. Il suffira alors, avec cette droite, de déterminer à combien de millivolts répondent les pH compris entre 1 et 10. Cela rendra facile et rapide la confection de tampons à pH déterminés, comme nous le verrons dans la suite.

b) Confection des tampons à pH déterminés nécessaires à une cataphorèse

1° Les pH utiles seront les suivants : 3-5, 4-5, 5-5, 6-5, 7-5, 8-5 et 9-5.

Des récipients gradués autant que possible, auront été prévus. Le pH sera inscrit de façon visible à leur surface. Ces récipients seront en verre neutre, propre et sec à l'intérieur.

Ils seront remplis de sérum physiologique à 9 ‰. Pour les pH allant de 3-5 à 8-5 inclus, ce sérum physiologique aura été préparé avec l'eau du robinet. Pour les pH supérieurs à 8-5 le sérum physiologique aura été préparé avec de l'eau distillée, pour éviter les précipitations de sels alcalino-terreux qui ne manqueraient pas de se produire en milieu trop alcalin.

2° Pour amener les tampons au pH voulu, on emploiera l'acide chlorhydrique et la soude diluée au 1/10 ou au 1/100 suivant les besoins. Il y a intérêt à conserver à la solution tampon une concentration aussi voisine que possible de sa concentration initiale ; aussi la neutralisation sera-t-elle effectuée avec un acide ou une base aussi concentrés que possible.

Pour mesurer avec précision les minimales quantités de l'un ou de l'autre de ces réactifs produisant une faible variation de pH, l'acide et la base sont additionnés au moyen d'une micro-burette au 1/50 ou au 1/100 de centimètre cube que l'on adapte au-dessus de L1.

3° Le sérum à étudier aura été dilué à 4 ‰. Il sera réparti dans huit tubes à essais, qui porteront de façon apparente à l'extérieur le pH auquel doit être amené le serum.

4° On placera dans l'entonnoir L1 une quantité en excès du tampon initial que l'on désire ajuster à 7-5.

La force électromotrice correspondant au pH désiré aura été calculée à l'avance sur la droite déterminée précédemment par étalonnage.

Au début des mesures, on fixe la hauteur d'attache de l'électrode S_1 au moyen de l'anneau-butoir a_3 ; avant chaque addition de la quantité d'acide ou de base nécessaire pour neutraliser la solution tampon, on soulève l'électrode S_1 au-dessus du vase en entonnoir. L'acide ou la base sont ajoutés, puis on homogénéise le liquide par agitation avec une baguette de verre. On laissera cette baguette dans l'entonnoir pendant toute la suite des opérations pour ne pas perdre de liquide en la retirant. Bien vérifier avant toute agitation que le robinet R est dans la position IIIa pour ne pas souiller l'élément au calomel et la solution à étudier en les mélangeant par entraîne-

ment dans les remous produits. Après cette opération, on redescend à sa place l'électrode S_1 et on fait une lecture au potentiomètre. Tant que le pH désiré est loin d'être atteint et qu'il suffit d'être renseigné sur le sens de la variation à produire, il n'est pas indispensable d'attendre la fin de l'équilibration de la force électromotrice. La mesure correcte n'est faite que dès que le pH désiré semble près d'être atteint.

Quand la solution est définitivement ajustée au pH voulu, on sèche au coton le déversoir T, on le rince deux ou trois fois après écoulement d'une petite quantité du tampon qui est dans l'entonnoir, puis on recueille le reste de celui-ci dans un flacon propre et sec que l'on bouche avec soin.

5° La solution à amener au pH 8-5 sera ensuite versée dans L1. Entre cette solution et la précédente, il n'aura pas été nécessaire de faire les opérations de lavage et de rinçage, décrites plus haut. La différence de pH n'est pas assez importante pour obliger à un nettoyage complet du récipient et de l'électrode.

Les mêmes manipulations que précédemment seront faites pour amener cette solution et la suivante au pH désiré.

6° Avant de passer au pH 6-5 et inférieurs, on procédera à un nettoyage de l'entonnoir et de l'électrode. Trois lavages à l'eau distillée et un séchage au papier filtre suffiront amplement.

7° Une fois que toutes les solutions tampons auront été ramenées au pH désiré, les mêmes manipulations seront répétées pour amener le sérum examiné au pH correspondant. Comme il s'agit de solutions moins abondantes habituellement, on sera plus économe dans le rinçage du déversoir T et avant d'évacuer la solution, on se contentera d'un bon séchage du bec avec un coton propre. Les opérations de lavage du récipient ne seront faites également qu'au moment du passage des pH alcalins aux pH acides.

8° Ces opérations terminées, l'électrode à antimoine ne servira plus.

On évacue la solution de référence. Les récipients L1 et L2 sont nettoyés par un triple lavage à l'eau distillée.

Les robinets R sont mis à la position III b. Les électrodes enlevées et essuyées avec un coton sec.

Pour éviter que les deux antimoine ne suivent une évolution différente et ne s'altèrent en particulier d'une façon inégale au repos, au contact de l'atmosphère usuelle du laboratoire, il est commode de garder les électrodes à sec, en court-circuit l'une sur l'autre, les baguettes d'antimoine se touchant ainsi que les fils de cuivre qui leur servent d'attache, de façon à éviter toute différence de polarisation d'origine atmosphérique.

c) Précision de la méthode

Nous avons vu que les électrodes d'antimoine sont étalonnées à partir de tampons préalablement mesurés à l'électrode à hydrogène, il ne faut par conséquent n'attendre des premières qu'une précision inférieure à celle de la seconde; de plus, dans la mesure à l'antimoine, l'équilibre n'est fixé qu'à 1 millivolt près. Alors que par la méthode à l'hydrogène le pH est usuellement connu à 0 mv. 01 près, avec l'antimoine, dans toute la zone d'utilisation de la courbe d'étalonnage (c'est-à-dire pour les pH compris entre celui de l'H Cl de référence et celui du tampon étalon du pH le plus élevé), cette erreur qui dépend principalement de la constante A, varie de 0,03 à 0,06 unités de pH. Ainsi pour un pH moyen de 7, les électrodes présentent la valeur théorique 0,0175 et l'étalonnage étant fait jusqu'à pH 9,00, l'erreur est de 0,05 pH.

Malgré son imperfection par rapport à la méthode à l'hydrogène, l'électrode d'antimoine reste de beaucoup la plus favorable quand on s'adresse à des substances rapidement altérées par les courants gazeux ou par le temps; tel est souvent le cas particulier des milieux biologiques, aussi a-t-on fait de très nombreuses applications de cette méthode à l'institut de Physique Biologique de Strasbourg.

d) Accidents survenant au cours d'une mesure

Les accidents usuels pouvant survenir au cours d'une mesure sont de 3 ordres :

- 1° Le circuit électrique est fortuitement coupé ou défectueux.
- 2° Les valeurs fournies par les 3 tampons d'étalonnage s'alignent sur une droite qui ne passe pas par le zéro.
- 3° L'équilibre de la chaîne est aberrant et en particulier n'est pas atteint dans le temps standard.

I. — COUPURES DE CIRCUIT ET CONTACTS DÉFECTUEUX

On les reconnaît à ce que le spot du galvanomètre n'a qu'un déplacement nul ou insensible quand on ferme le circuit, et même lorsqu'on change notablement la position du curseur du potentiomètre. Au contraire, pour un circuit établi correctement, le spot se déplace librement, pourvu qu'on ne soit pas tout près de l'équilibre des forces électromotrices.

Ces mauvais contacts sont recherchés méthodiquement, d'abord au niveau du robinet R (dont les voies ont pu être obstruées par une bulle d'air), puis dans le liquide examiné lui-même (qui a pu s'écouler au point qu'il n'affleure plus l'antimoine), dans l'élément au calomel (dont l'électrode de Pt peut-être accidentellement hors du circuit), dans les électrodes d'antimoine (dont la soudure antimoine-laiton peut être cassée); enfin, lorsque les électrodes d'antimoine ne sont pas reliées directement par leur laiton, dans les tiges métalliques du support (qu'un mauvais entretien a pu laisser se couvrir de rouille). Voici sommairement les procédés pour dépister ces accidents.

On explore séparément chaque moitié de chacune des piles, avec un contact accessoire en fil de platine.

1° Élément au calomel. — Pour étudier isolément l'élément au calomel, on forme une chaîne Pt, élément au calomel, KCl Pt, et l'on réunit les 2 Pt aux bornes du potentiomètre. Pour cela, sans toucher au liquide du vase L, on adjoint à l'élément au calomel l'électrode accessoire de Pt que l'on introduit dans l'extrémité du déversoir T rempli de KCl saturé par manœuvre du robinet K, le robinet R étant dans la position II.

2° Circuit de l'antimoine. — Avec l'électrode accessoire de Pt, on forme une chaîne Sb, solution dans le vase L, Pt, dont on relie les extrémités aux bornes du potentiomètre, en évitant d'établir le contact direct de l'antimoine et du platine.

3° Circuit des tiges support. — On réunit aux bornes du potentiomètre d'une part la borne P, située au bas de la tige support, et d'autre part la bague de serrage d'une des électrodes d'antimoine. On opère de même successivement pour chacune des électrodes.

II. — LES VALEURS DES 3 TAMPONS D'ETALONNAGE S'ALIGNENT SUR UNE DROITE QUI NE PASSE PAS PAR LE ZÉRO

L'accident dans lequel les valeurs fournies par les 3 tampons d'étalonnage s'alignent sur une droite qui ne passe pas par le zéro, est l'indice que l'un des éléments des piles introduit une constante accessoire; l'un des éléments au calomel ou l'une des électrodes d'antimoine est fautif.

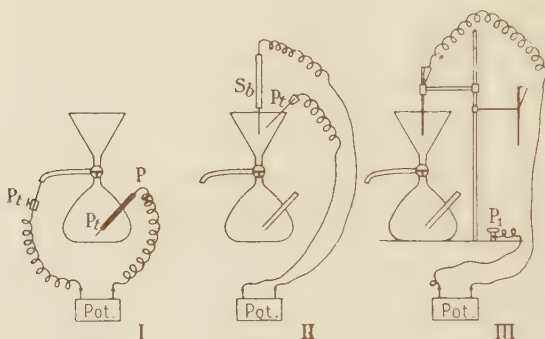


FIG. 10.

1° Élément au calomel. — On s'assure qu'un élément au calomel est en bon état, en le comparant à un autre élément semblable et correct, par opposition, c'est-à-dire en formant la chaîne :

Pt élément au calomel suspect, K Cl; K Cl, élément au calomel correct, Pt. La force électromotrice de l'ensemble doit être nulle (pratiquement inférieure à 2 millivolts en valeur absolue).

Pour réaliser cette chaîne, on réunit aux 2 bornes du potentiomètre les Pt des 2 éléments au calomel; le contact K Cl/K Cl se fait en plongeant les becs déversoirs T dans une petite cuve qu'on emplira, ainsi que les déversoirs, de K Cl saturé.

L'une des causes de souillure de l'élément au calomel peut provenir de ce qu'on a oublié de couper la communication entre les vases inférieur et supérieur E et L, pendant l'agitation du liquide de celui-ci ou pendant les rinçages. On nettoie l'élément au calomel par purge du liquide de sa partie supérieure au moyen du K Cl du réservoir K.

Il peut aussi se faire que le tube de verre auquel est soudée l'électrode de Pt de l'élément au calomel se soit fêlé, du liquide

est alors venu créer des forces électromotrices parasites au contact du laiton et des ions étrangers ont pénétré dans l'élément au calomel. Généralement on voit alors grimper dans le tube du vert de gris. L'accident est grave, il faut entièrement refaire l'élément au calomel.

2° Electrode d'antimoine. — Ces électrodes ont pu garder à leur surface un dépôt adhérent provenant de leur emploi précédent, en particulier ce phénomène arrive lorsqu'elles présentent des anfractuosités. Il suffit alors de faire un grattage plus efficace.

III. — L'EQUILIBRE N'EST PAS ATTEINT DANS LE TEMPS STANDARD

Il peut se faire que la force électromotrice du système ne se stabilise pas en quatre minutes. Cette instabilité peut être attribuée à des causes de divers ordres. Enumérons d'abord les fautes de technique; elles tiennent toujours, soit à l'introduction de substances étrangères dans l'élément au calomel ou dans le milieu étudié, soit à une fabrication défectueuse des électrodes d'antimoine. On explore alors l'élément au calomel, et le milieu étudié.

1° Élément au calomel. — On s'assure qu'un élément au calomel est en bon état en opérant comme il a été décrit dans un paragraphe précédent.

2° Milieu étudié. — La faute de technique qui a pu être commise est une addition fortuite de KCl saturé; par exemple la communication avec l'élément au calomel n'a pas été interrompue pendant l'agitation. Il peut aussi arriver que le pH étudié varie progressivement en tendant vers pH 5 (correspondant à la force électromotrice du KCl saturé seul); on constate du même coup que le niveau du liquide va en s'élevant dans l'entonnoir L. Cet accident arrive quand on a oublié de fermer le robinet du réservoir à KCl situé à un niveau supérieur.

Enfin, ce qui est indépendant de la technique, le milieu étudié peut être en évolution, par exemple en voie de transformations chimiques (action de l'acide ou de la base ajoutés, carbonatation, départ de gaz libérés ou dissous, etc...), ou bien il se sépare des phases (précipitation, sédimentation de substances non dissoutes comme dans le cas des terres, floculation, ce dernier phénomène se remarque très nettement quand on amène à son point isoélectrique une solution concentrée de protéide, les flocons sont alors très gros et déposent rapidement, etc...), ou enfin on assiste à une gélification (comme nous l'avons observé pour le silicate de Na amené aux environs de pH 8). Tous ces processus sont laissés au jugement de l'expérimentateur.

Dans le cas particulièrement simple d'un phénomène en voie d'évolution dont on ne veut étudier que le terme final, il suffit, à

condition qu'il apparaisse en moins d'une dizaine de minutes, de laisser l'électrode d'antimoine au contact du système, et de mesurer de temps en temps la force électromotrice. Quand celle-ci paraît stabilisée, on se garde de noter la valeur atteinte qui serait incorrecte, puisque faite dans un temps supérieur au temps standard, on sort l'électrode d'antimoine et la replonge en un autre point du liquide et fait la mesure comme dans un cas ordinaire. Au cas où le temps de stabilisation du phénomène est plus considérable, de l'ordre de l'heure par exemple, il vaut mieux laisser l'évolution se poursuivre dans un récipient indépendant sans électrode d'antimoine, et faire la mesure du pH au dernier moment.

Le montage en différentiel est en usage à l'institut de Physique Biologique de Strasbourg depuis 1926, et a été utilisé depuis par un grand nombre de chercheurs (GEX).

PARAGRAPHE III

Techniques relatives à la cataphorèse

1° PRÉLÈVEMENT DU SANG.

Vingt centimètres cubes de sang sont prélevés habituellement par ponction des veines du pli du coude, de préférence le matin de bonne heure. S'il est nécessaire d'examiner plusieurs fois un même sujet, il importe que les prélèvements soient espacés de plusieurs jours (10 à 12 jours au minimum), Les petites saignées successives ayant un retentissement sur le point iso-électrique.

2° Le sang recueilli dans un tube à essai propre et sec, est mis immédiatement à l'étuve à 37°. Lorsque celle-ci ne se trouve pas à proximité, il importe d'envelopper le tube à essai avec du coton pour éviter le refroidissement du sang en attendant le transfert à l'étuve qui doit toujours être fait le plus tôt possible.

3° PRÉPARATION DU SÉRUM.

Le sang est laissé à l'étuve pendant une heure et demie, pour permettre la coagulation que l'on surveille de temps en temps. Si le sérum exsude mal, il faut décoller le caillot des parois du tube avec un agitateur en verre sec et propre.

4° Mettre à la glacière pendant 3 heures et demie.

Cinq heures après la prise de sang, prélever le sérum isolé du caillot, centrifuger quelques minutes pour séparer complètement les globules qui pourraient rester en suspension et remettre le sérum à la glacière si l'on n'est pas immédiatement prêt à s'en servir.

Il est nécessaire toutefois de faire l'examen dans les heures qui suivent la prise de sang.

LA SALLE DE CATAPHORÈSE.

Seul doit pénétrer dans cette salle celui qui est chargé de la cataphorèse. Seul, en effet, l'expérimentateur qui s'est rendu compte par lui-même de la longueur et de la minutie nécessaires à la préparation d'une cataphorèse, saura éviter le geste brutal (porte fermée brusquement, marche trop rapide, etc., etc.), capable de troubler un équilibre hydrostatique et compromettre entièrement le résultat d'un long travail par une minute d'inadvertance.

Cette salle possèdera un évier avec eau courante. Le soleil n'y pénétrera pas directement. Si cela ne peut s'éviter, on devra faire en sorte que le rayon solaire ne se pose à aucun moment sur les piles ou sur les tubes en expérience. De même, on veillera à ce que la température ambiante ne soit pas modifiée en cours d'expérimentation par une fenêtre ouverte ou un courant d'air persistant.

7° MATÉRIEL A CATAPHORÈSE.

Le matériel comprend (fig. 11).

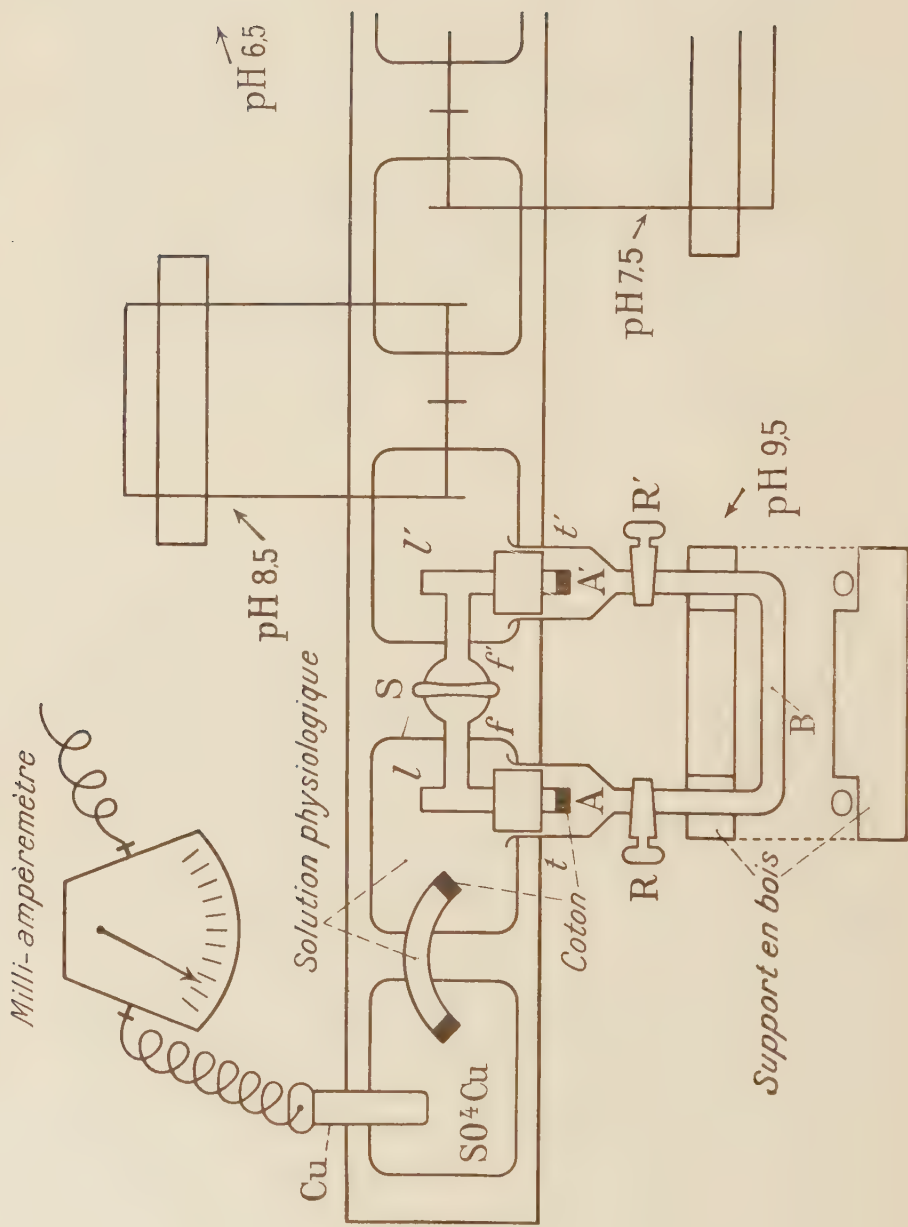


FIG. 11.

Des tubes en U avec des tubes transversaux d'équilibration hydrostatique.

Des godets.

Une planche support avec contacts électriques.

Les tubes en U sont destinés à être placés horizontalement, les siphons courbes l et l' plongeant dans des godets de liaison qui sont eux-mêmes logés dans la rainure centrale de la planche. Les orifices t t' des siphons courbes dans les ampoules A et A' des tubes en U, sont obturés par un tampon de coton mouillé qui évite les perturbations hydrauliques pendant le réglage. La substance que l'on soumet à cataphorèse est placée dans la branche médiane B du tube en U entre les deux robinets R; les ampoules terminales A, les siphons et les branches transversales l et S sont remplis avec une solution physiologique de même pH que la solution qui est dans le tube en U. Les godets de liaison sont remplis de solution physiologique ordinaire à pH 8 (eau avec Na Cl à 9 ‰).

8° PLANCHE A CATAPHORÈSE.

La planche qui doit recevoir les tubes à cataphorèse doit présenter les qualités suivantes :

Elle doit être horizontale et posée bien à plat. Le bois choisi sera habituellement le chêne. Elle sera recouverte de paraffine ou de peinture cellulosique, pour éviter qu'elle ne gonfle sous l'influence de l'humidité ambiante ou de l'eau qui pourrait être renversée à sa surface.

Cette planche reposera sur une table à laquelle ne peut être transmise les vibrations extérieures (ébranlement occasionné par le passage de véhicules ou même par les allées et venues de l'expérimentateur dans la salle de cataphorèse). Aussi choisira-t-on de préférence une table scellée dans un mur dont on aura vérifié par les moyens habituels qu'il ne transmet aucune vibration (Le plus simple est d'y placer un miroir avec suspension à la cardan et de recueillir à distance un rayon lumineux projeté à sa surface. Ce rayon révélerait en l'amplifiant la plus petite vibration). Aux deux extrémités de la planche se trouveront des contacts électriques pour l'arrivée

et la sortie du courant, en son milieu une rainure recevra les godets de liaison. Sur ses côtés sont fixés les supports en bois des tubes à cataphorèse.

La planche dont nous nous servions avait les dimensions suivantes que nous donnons à titre de renseignements :

Longueur : 96 centimètres.

Largeur : 34 centimètres.

Supports en bois :

Hauteur : 3 cm. 5.

Largeur : 10 centimètres.

Espace :

Entre chaque support : 9 cm. 5.

Entre le support et la rainure : 9 centimètres.

Largeur de la rainure centrale : 3 cm. 8.

9° Sur cette planche, avant de commencer l'expérience on disposera les godets et les tubes à cataphorèse dans l'ordre où ils devront servir.

Les godets de liaison seront remplis aux $\frac{2}{3}$ de leur hauteur d'une solution physiologique ordinaire à pH 8 ou mieux d'un mélange intermédiaire entre les solutions des deux tubes successifs. Le dernier godet à chaque extrémité de la série est rempli au $\frac{1}{3}$ de sa hauteur avec une solution de sulfate de cuivre. Il reçoit le contact métallique de Cu et est relié par un siphon plein de solution physiologique au godet suivant de la série.

On vérifiera ensuite : 1°) les bouchons des tubes à cataphorèse pour voir s'ils s'adaptent bien à leurs orifices respectifs; 2°) les robinets de chaque tube, pour être sûr qu'ils tournent sans effort dans leur boisseau; un robinet mal graissé suffit à faire manquer toute une cataphorèse. On se servira de vaseline blanche neutre pour enduire les robinets qui tourneraient difficilement.

A l'extrémité interne des siphons (en t et en t'), on dispose des petits tampons de coton qui doivent être assez serrés pour empêcher les protéines de quitter leurs ampoules respectives et assez lâches pour ne pas s'opposer au passage de

l'eau et du courant. Avec un peu d'habitude, on arrive à leur donner la même consistance dans chaque tuyau.

10° Ces préliminaires terminés, on est prêt à se servir de l'électrode à antimoine, qui permettra d'amener aux pH voulus les solutions destinées à être mises dans les différentes portions des tubes à cataphorèse (voir page 63 et suivantes).

REMPLEISSAGE DES TUBES A CATAPHORÈSE.

Le tube B étant tenu verticalement, on y verse la solution colloïdale de pHx, jusqu'à remplir complètement la branche B, y compris les conduits des robinets R et R'. Il faut éviter de laisser des bulles d'air qui empêcheraient le passage du courant électrique. On chasse ces bulles en donnant un mouvement de va-et-vient au liquide. Au cours de ces manipulations, on a chauffé B avec les mains, ce qui a pu dilater le réservoir et le liquide. Pendant la cataphorèse B reviendra à la température du laboratoire et reprendra son volume d'équilibre c.a.d., que lorsqu'on ouvrira les robinets, des perturbations hydrauliques pourraient intervenir. Aussi doit-on refroidir la branche B sous un courant d'eau, de façon à la ramener aux environs de la température du laboratoire. On ferme ensuite les robinets R et R'.

D'un coup sec on jette l'excès de solution colloïdale, restée dans les ampoules A A'. Leur partie inférieure est soigneusement essuyée avec un coton sec et propre; on les lave à la solution physiologique de pHx, puis on emplit ces ampoules A et A' de solution physiologique de même pH que la solution colloïdale, jusqu'à avoir un ménisque débordant (ne pas laisser de bulle d'air).

11° Les tampons de coton placés en t, t' sont humectés d'un jet de pipette avec la solution physiologique à pHx. Il est important de faire cette opération avant d'enfoncer le siphon dans le tube en U, parce que le coton sec s'imbiberait aux dépens du liquide des ampoules A A' et introduirait dans celles-ci des bulles d'air. Puis on prend le tube en U plein, qu'on maintient verticalement dans la main gauche, l'ampoule

A maintenue entre le pouce et l'index, les autres doigts glissés sous le robinet R. Le tube transversal S est pris dans la main droite entre le pouce et l'index placé au-dessus et contre le bouchon F. Les deux bouchons F F' sont amenés en face de leurs orifices respectifs et enfoncés légèrement, le tube en U étant toujours maintenu vertical. A ce moment, la main gauche quitte sa place et se met dans la même position que la main droite c.a.d., le bouchon F tenu entre le pouce et l'index, les autres doigts allongés sous l'ampoule A. Le tube à cataphorèse est alors incliné de 45° environ, la branche B appuyée contre la base du thorax, formant coussin élastique, ce qui permet d'enfoncer plus solidement les bouchons F F', sans risquer de briser le tube (Voir Planche III) (Fig. 1).

12° Les bouchons étant ainsi solidement enfoncés, on dépose l'appareil à plat sur la main gauche, placée en supination, les extrémités l et l' vers le haut et on maintient l'ensemble avec les doigts légèrement courbés. De la main droite, au moyen d'une pipette fine, on introduit de la solution physiologique de pHx par l ou l' (robinet S ouvert). On emplit ainsi presque complètement le siphon. On donne un mouvement de va-et-vient pour chasser les bulles d'air qui pourraient être adhérentes aux parois du tube ou à l'intérieur de S. S'il y avait des bulles d'air à obstruer la lumière du tube, le siphonage ne se ferait pas. On ferme ensuite le robinet S. Avec la pipette on termine le remplissage en l et l' jusqu'à ménisque débordant (Voir IPanche III) (Fig. 2).

13° MISE EN PLACE DU TUBE A CATAPHORÈSE.

On retourne le tube à cataphorèse sur les godets de liaison, comme l'indique la figure 11. Si la planche a été mouillée au cours des manipulations, on l'essuiera soigneusement, pour éviter les fuites de courant électrique.

14° SIPHONAGE POUR EQUILIBRATION HYDROSTATIQUE

Les tubes en place, de la main gauche on les maintient et de la main droite on ouvre délicatement tous les robinets S

pour équilibrer hydrostatiquement les niveaux des godets ; on attend une quinzaine de minutes que l'équilibration soit terminée (Voir Planche IV) (Fig. 1).

15° Les robinets S sont ensuite fermés avec les mêmes précautions que pour leur ouverture. Il faut en effet éviter de donner des déplacements au système, parce qu'on produirait des remous qui perturberaient l'équilibre hydrostatique. Les robinets R et R' des tubes en U sont ouverts (Planche IV, fig. 2), et on fait passer le courant électrique. (Nous rappelons que le robinet S est ouvert quand il permet la communication entre les deux branches du siphon. Les robinets R et R' sont ouverts quand ils permettent la communication entre la branche B et les ampoules A et A'). Un milli-ampéremètre est intercalé en série. On vérifie au voltmètre en mettant des contacts dans les godets (Planche V, fig. 1), que la différence de potentiel aux bornes des différents tubes est la même (à 2 ou 3 volts près) ; une montée brusque de cette différence de potentiel, pour un tube indique que celui-ci est bouché, soit par une bulle d'air, soit par un tampon de coton trop serré. Il faut rechercher les bulles d'air dans les robinets ou dans les siphons. Dans ce cas fermer tous les robinets R R', enlever les tubes fautifs, les rectifier et les remettre à leur place. S'il n'y a pas eu de perte du liquide du godet, il est inutile en principe de refaire l'équilibration hydrostatique. Cependant il est préférable d'attendre quelques minutes avant d'ouvrir à nouveau les robinets R et R'.

16° LE COURANT ELECTRIQUE.

Le courant électrique doit être du courant continu. Pour une cataphorèse comprenant 7 tubes en série, il faut aux bornes une différence de potentiel de 220 volts.

L'intensité favorable est trois milli-ampères pendant une heure et demie. Une intensité plus élevée chauffe les tubes et dénature les solutions. Plus faible le transport des protéines se fait mal.

A Paris, où le courant électrique est distribué à peu près

partout sous la forme de courant alternatif, nous nous sommes d'abord adressés à une génératrice qui fournissait le courant continu nécessaire aux appareils du laboratoire (étuve et centrifugeuses, etc...). En intercalant sur ce courant un tableau avec lampes, nous avons réussi à obtenir un courant de 3 milli-ampères; mais pour cette faible intensité, nous n'avions plus un courant continu; mais étions en présence d'un courant ondulé, qui ne se prêtait nullement à une cataphorèse régulière.

Après bien des recherches, nous avons enfin adopté l'installation suivante : Nous nous sommes fait livrer une série de petits accumulateurs groupés par 20 éléments, analogues à ceux employés dans les grands réseaux de chemin de fer pour le fonctionnement du « despatching ». Ce dispositif relativement peu coûteux (surtout si on le compare aux dépenses occasionnées pour des installations similaires), nous a toujours donné un courant régulier de 3 milli-ampères, avec une différence aux bornes de chaque tube à cataphorèse variant entre 20 et 25 volts. Cette installation a également l'avantage de n'être pas fragile, de ne demander aucun entretien particulier; ces petits accumulateurs tiennent la charge plusieurs mois et ne se détériorent pas au repos même prolongé. Enfin l'encombrement est minime. Voici les chiffres relatifs à notre installation :

Longueur : 70 cm.

Largeur : 32 cm.

Hauteur : 20 cm.

17° RÉCOLTE DE LA CATAPHORÈSE.

Tous les robinets R R' seront fermés lorsque le courant sera passé pendant le temps nécessaire (une heure et demie, avec trois milliampères). Le contact est ensuite enlevé.

A l'avance on aura disposé dans un porte-tube deux rangées parallèles de quatorze tubes à essais. Chacun des tubes de la rangée postérieure, de dimensions sensiblement égales, contient 4 cc. d'un mélange à parties égales.

Alcool à 90°. }
Acétone de Bisulfite. } a a

La rangée antérieure contient des tubes secs et propres destinés à recevoir le contenu des ampoules A A'.

Extérieurement des signes + ou —, ainsi que le numéro du pH correspondant empêchent une erreur, que l'on évitera d'ailleurs instinctivement si l'on prend la précaution de toujours faire les mêmes gestes. L'ampoule représentant l'anode sera toujours saisie de la main gauche, les siphons enlevés doucement avec la main droite par un mouvement de va-et-vient. Deux tubes à essais seront alors approchés des ampoules A A' et maintenus avec les derniers doigts de chaque main. Un mouvement de bascule fera passer le contenu des ampoules dans les tubes correspondants qui seront remis à leurs places respectives dans le porte-tube (Planche V, fig. 2).

A ce moment, aucun louche n'est perceptible; il apparaîtra seulement sous l'action de l'alcool acétone. Deux centimètres cubes sont prélevés dans chaque tube de la rangée antérieure et versés dans le tube correspondant de la rangée postérieure. Entre chaque prélèvement, la pipette est rincée au sérum physiologique et essuyée sommairement. Les tubes sont ensuite bouchés soigneusement pour éviter l'évaporation. Les bouchons de liège seront employés de préférence aux bouchons de caoutchouc, qui pourraient être attaqués par le mélange alcool-acétone.

18° LECTURE DE LA CATAPHORÈSE.

Après deux ou trois agitations, une première lecture peut être faite pour déterminer approximativement le sens du transport des protéines. Celles-ci se présentent habituellement sous la forme de gros flocons à contours flous, qui flottent dans un liquide plus ou moins opalescent, à reflet bleuâtre.

Il est habituellement facile de discerner le tube le plus chargé en matière protéique, surtout si l'on a eu soin de border le bas du porte-tube avec une baguette noire de quelques centimètres de hauteur. La droite formée par la partie supé-

Détermination de points isoélectriques N° 28

Produit examiné: Sérum prélevé le: Nom X***

..... Age 17 ans Sexe ♀

Conditions du sujet: Grossesse à terme chez une primipare

Conditions de la cataphorèse: Date 22-7-35 Dilution: Mesures

de pH Milliampères 3 Temps de passage: 1h 30

Faite par: D^x

CATAPHORÈSE

pH	3,5	4,5	5,5	6,5	7,5	8,5	9,5
Différences de potentiel	12	13	14	13	11	13	13
	→	→	←	←	→	→	→
	+ + + +	+ + - +	+ + + +	+ + = +	+ + - +	+ + = +	+ + + +
			○ α		Δ		

pHi: { α - 5,4 γ > 9,5 Temps de coagul
urée

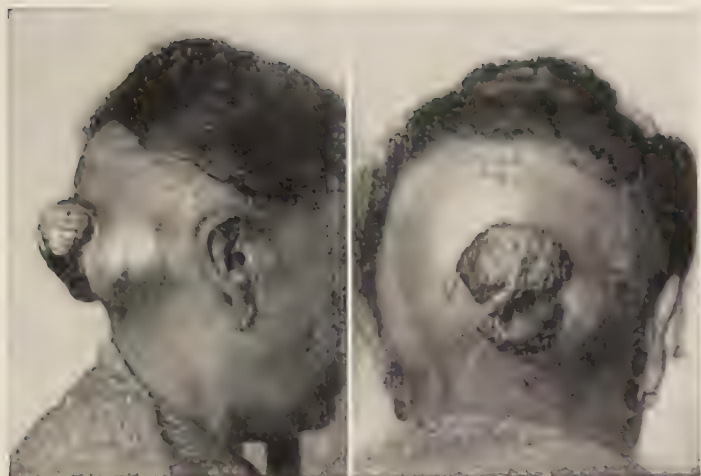
pN: { 7 chlore

pHi calc. α - 5,1 u/cl

Pouvoir alexique 210

Pouvoir hémol. nat

ALBUM DES FIGURES



1

2

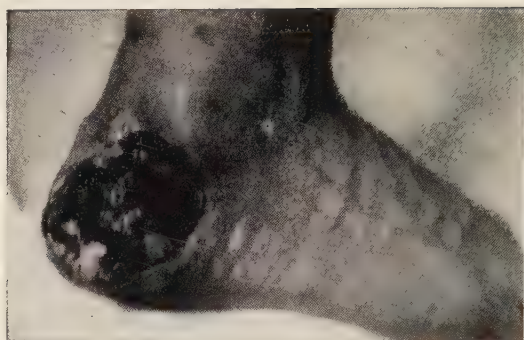


3

4

*Trois cas de cancers en traitement
par la technique VLÈS-DE COULON*

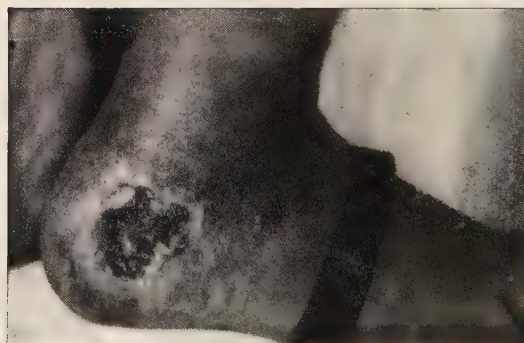
(VLÈS-GUNSETT.) N^{os} 1., 2. *Sarcome du cuir chevelu*, 26 octobre 1932, à la fin du traitement radiothérapeutique, et avant le traitement à base d'acides aminés. — 3. Même malade, 28 avril 1933, après 4 mois de traitement. — 4. Même malade, 25 août 1933, après 8 mois de traitement.



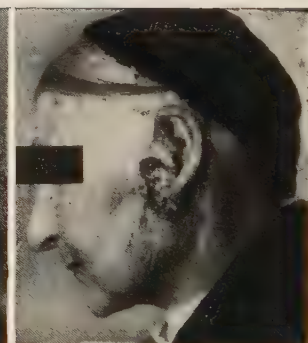
5



7



6



8

N° 5. *Mélanosarcome du pied*, 30 mars 1933, avant le traitement à base d'acides aminés. — 6. Même malade, 10 novembre 1933, après 5 mois de traitement. — 7. *Epithélioma spinocellulaire*, 26 octobre 1932, femme de 82 ans, à la fin du traitement radiothérapique. — 8. Même malade, 19 avril 1933, après 4 mois et demi de traitement à base d'acides aminés.



FIG. 1. — Mise en place des bouchons



FIG. 2. — Remplissage du siphon.

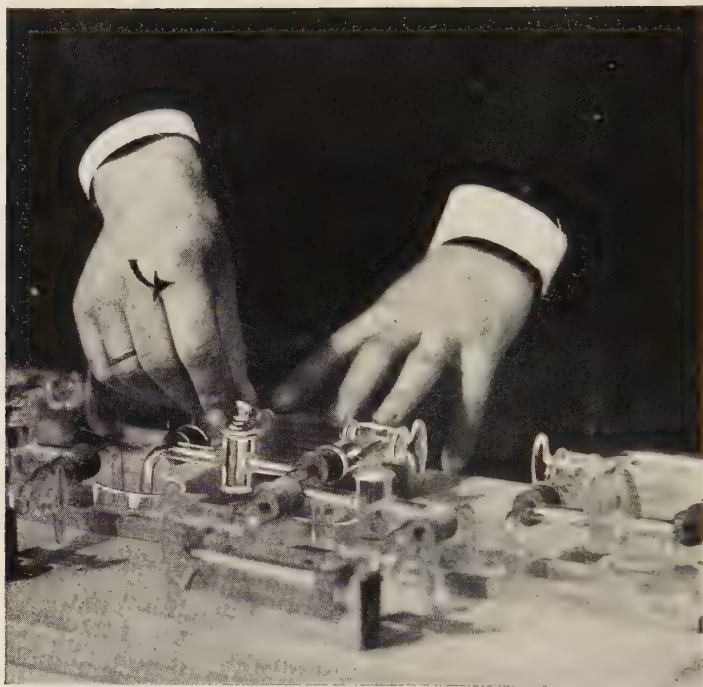


FIG. 3. — Siphonage.

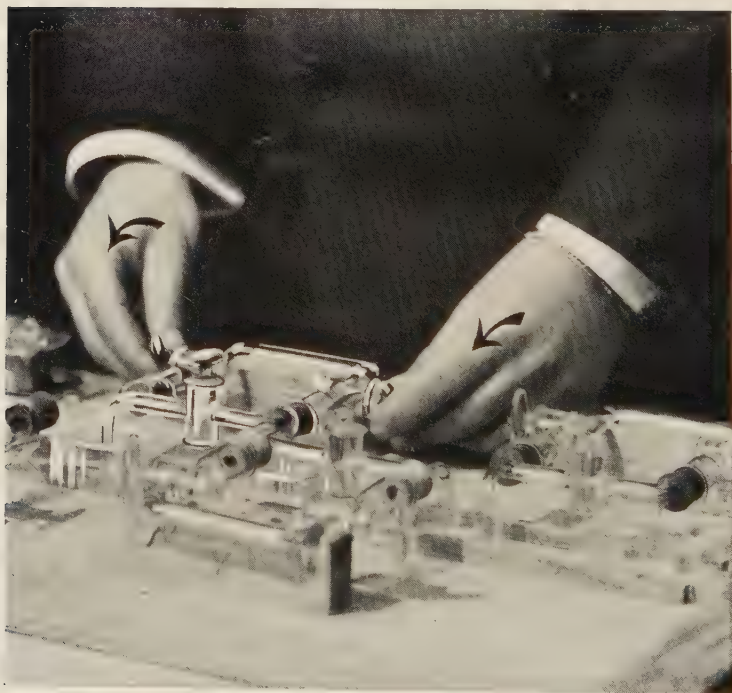


FIG. 4. — Ouverture des robinets.

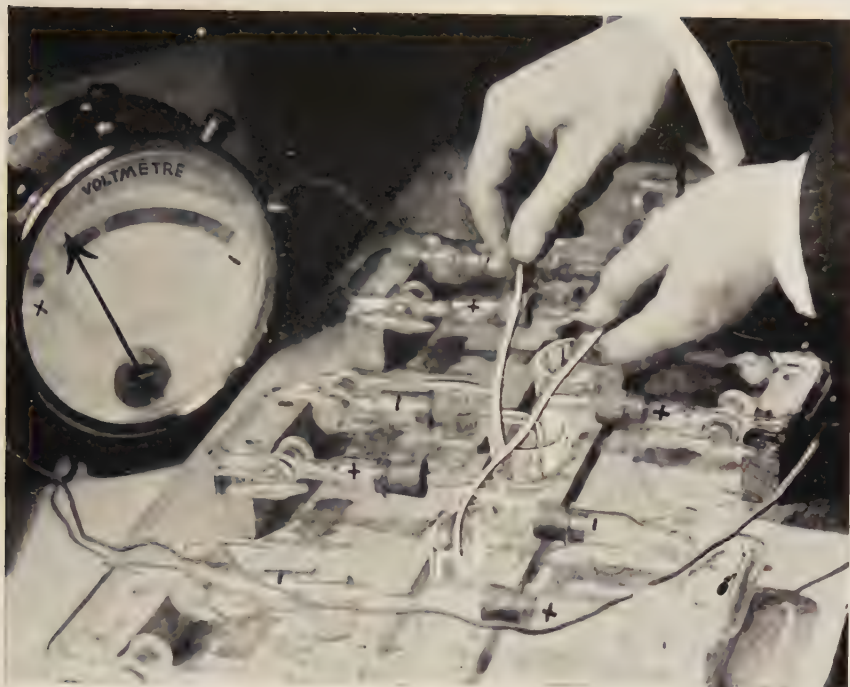


FIG. 5. — Mesure du voltage aux bornes de chaque tube.



FIG. 6. — Récolte de la cataphorèse.

rieure de cette baguette se distingue en effet plus ou moins nettement, suivant qu'elle est aperçue à travers une solution plus ou moins claire. Dans les cas douteux, il sera avantageux de recourir au néphélémètre, comme nous l'avons fait pour certaines de nos cataphorèses.

Les tubes sont alors laissés au repos, et la lecture définitive est faite plusieurs heures après (le plus souvent le lendemain). A ce moment, toutes les protéines ont eu le temps de précipiter. Les tubes sont à nouveau agités pour homogénéiser les suspensions de flocons. On emploie les signes + ou — répétés, une, deux ou trois fois suivant l'estimation approximative de la quantité de matière contenue dans chacun des tubes. Une flèche indique le sens du transport. Les points iso-électriques (pHi) sont indiqués par le signe O; les points neutres par le signe Δ. Nous reproduisons d'ailleurs ci-contre une fiche de cataphorèse, telle quelle est en usage à l'Institut de Physique Biologique de l'Université de Strasbourg.

Recherche du pouvoir alexique du sérum

A. — RELATIONS ENTRE LES POINTS ISO-ELECTRIQUES ET LE POUVOIR ALEXIQUE DU SERUM HUMAIN

On définit le pouvoir alexique : l'inverse de la concentration du sérum, qui dans des conditions données produit 95 % d'hémolyse.

L'existence d'une relation entre les points isoélectriques et le pouvoir alexique (PA) du sérum humain, présente de nombreux avantages. Elle permet en particulier en comblant les mesures de pH_i et de PA, d'interpréter avec sécurité les résultats d'une cataphorèse en permettant d'attribuer sans erreur les dénominations α , β ou γ aux points isoélectriques constatés.

Cette relation a été mise en évidence par les travaux de VLES, PRAGER et BERSTEIN, qui dès l'abord des premières recherches avaient envisagé à titre d'hypothèse, des relations possibles entre les pH_i et les phénomènes de l'immunité.

Une série de sérums humains normaux ou pathologiques furent étudiés, on détermina simultanément les points isoélectriques par cataphorèse, et une cote relative du pouvoir alexique par la méthode hémolytique. Les résultats de cette étude mettent en évidence une série de faits caractéristiques, qui éclairent le problème des points isoélectriques en même temps que celui de l'alexine.

Les sérums au pouvoir alexique élevé correspondent à un point isoélectrique bas vers pH 5 qui est le point α , suivant le schéma usuel, un point γ et un point β sont le plus souvent soupçonnés en dehors des limites, d'un au delà de pH 9, l'autre au-dessous de pH -4.

Lorsque le pouvoir alexique baisse on assiste à une ascension régulière du point α qui rejoint la limite de pH 9 et sort de l'échelle. On est ainsi conduit dans une zone critique de pouvoir alexique ($PA = 85 - 95$ environ) pour laquelle aucun point isoélectrique peut n'exister dans les limites de la mesure (3,5 - 9,5), le transport se faisant entièrement et unilatéralement dans toute l'échelle. VLES et DE COULON ont signalé depuis longtemps de telles perturbations anormales, dans certains états pathologiques graves.

Le phénomène remarquable est que, si le pouvoir alexique baisse davantage, on voit reparaitre des points isoélectriques, qui partant

de la limite des forts pH, redescendent dans l'échelle. Mais cette fois plusieurs points sont souvent enregistrés et évoluent simultanément. On peut les interpréter d'abord comme α et β , lequel se place hors de la limite inférieure, puis comme α et γ qui rentre dans l'échelle et s'abaisse considérablement.

Il faut noter que pour les pouvoirs alexiques faibles, la précision des mesures diminue fortement, ces sérums étant tous susceptibles d'hémolyser appréciablement, au moins aux concentrations fortes (1/30 ou 1/15) les globules de mouton, sans adjonction de sérum anti-mouton.

Le point α est donné par la formule :

$$\alpha = \frac{P A}{0,28 P A - 17,5}$$

d'où l'on peut tirer :

$$P A = \frac{17,5 \alpha}{0,28 \alpha - 1}$$

B. — TECHNIQUE DE RECHERCHE DU POUVOIR ALEXIQUE

La recherche de l'alexine a été effectuée par la réaction classique, avec une échelle de tubes contenant chacun dans trois centimètres cubes de liquide total, des quantités constantes d'Hématies de mouton lavées (1/2 cc. d'hématies au 1/25 environ). Un contrôle de la concentration des globules de mouton est fait par voie spectro-photométrique, sur un témoin où la même quantité d'hématies est laquée dans le même volume d'eau distillée et permet de vérifier que la concentration en hémoglobine est constante, ou de la ramener approximativement à la même valeur (1,7 à 1,8 gr. Hb 0² par litre).

A ces hématies de mouton sont ajoutés du sérum sensibilisateur anti-mouton (0 cc. 3 à 10 %), et des quantités progressives du sérum alexique à étudier. Après une demi-heure à 37°, on centrifuge et détermine le pour cent d'hémolyse par voie spectrophotométrique (colog I/I₀ sur la bande β de l'oxyhémoglobine, λ 542 μ) le % d'hémolyse est le rapport du colog d'une dilution donnée à celui du maximum d'hémo-

lyse obtenu dans la même série, et d'un témoin spectral où la même quantité d'hématies est laquée dans un même volume d'eau distillée.

Le pouvoir alexique PA est l'inverse de la concentration du sérum alexique, qui dans ces conditions produit 95 % d'hémolyse (le chiffre est en cas de besoin rectifié par interpolation sur la courbe).

Lorsqu'on ne dispose pas d'un spectro-photomètre, on peut avoir recours à un colorimètre pour établir la courbe d'hémolyse. Nous nous sommes servis d'un colorimètre à plongeurs.

L'appareil est composé essentiellement de deux tubes t^1 et t^2 , à fonds plats, dans lesquels sont placés les deux solutions à comparer, et qu'on éclaire par dessous au moyen d'une glace M ou d'une plaque de porcelaine. Ces tubes peuvent indépendamment monter ou descendre verticalement par l'effet d'une crémaillère. Dans ces mouvements, des plongeurs en verre P pénètrent plus ou moins dans le liquide et font varier l'épaisseur effective de solution traversée par les rayons lumineux.

A la sortie des plongeurs, les deux faisceaux de lumière sont juxtaposés par des réflexions successives, dans le champ d'une lunette L. On voit à l'oculaire ce champ divisé en deux parties, dont il s'agit d'égaliser les éclats en faisant varier les épaisseurs de solutions traversées.

MANIPULATION.

Les tubes propres et secs seront placés dans la source lumineuse. Ils ne devront plus être déplacés ensuite sous peine de fausser la mesure. Une encoche dans l'appareil permet d'ailleurs de retrouver la position initiale si pour une raison ou une autre, il a fallu déplacer l'appareil.

2° Mettre dans le tube t_2 la solution étalon; (en la circonstance, le témoin spectral correspondant à une hémolyse totale), à l'aide de la crémaillère le faire remonter et l'arrêter à un chiffre arbitrairement choisi, mais que l'on gardera identique pendant toute la comparaison avec les solutions à étudier (ce procédé simplifie les calculs). Le chiffre doit corres-

pondre à une épaisseur faible de la solution étalon, soit par exemple le chiffre 5.

Dans le tube t , on versera successivement les solutions de concentration inconnue. On fera ensuite varier l'épaisseur de la solution en manœuvrant la crémaillère de ce tube jusqu'à obtenir une égalité d'éclat des deux plages oculaires.

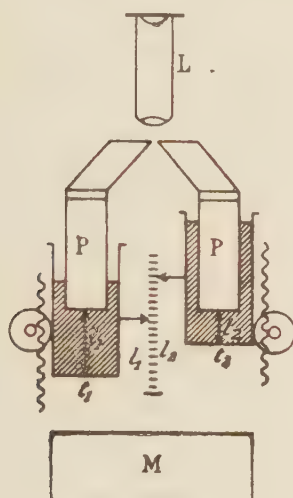


FIG. 12.

Entre chaque introduction d'une solution nouvelle, le tube t_1 et le plongeur correspondant seront soigneusement essuyés avec du papier filtre.

Le résultat final sera donné par la formule :

$$C^1 = C^2 \frac{l_2}{l_1}$$

Cette formule découle de la loi de BEER-LAMBERT.

C^1 est la concentration inconnue.

C^2 la concentration de la solution connue. Elle est égale à 100 dans le cas de la solution étalon.

l_2 et l_1 sont les épaisseurs de solution, elles sont données par lecture directe sur l'appareil (voir fig. 12).

PRÉPARATION DES SOLUTIONS.

1° On travaillera tout le temps avec de l'eau distillée physiologique, soit pour le lavage des globules de mouton, soit pour la préparation des dilutions de sérum, soit pour le rinçage des pipettes. On se sert d'eau distillée non physiologique une seule fois pour la composition du témoin spectral (La solution étalon quand on ne se sert pas du spectro-photomètre).

2° Le sang de mouton aura été recueilli dans un récipient contenant des bulles de verre, pour éviter la coagulation. Une première centrifugation séparera les globules du plasma. On ajoutera ensuite du sérum physiologique et on centrifugera autant de fois qu'il sera nécessaire pour que le liquide surna-

Titre du sérum dans le mélange %	Globules de mouton à 1/20	Sérum Hémolytique à 10 %	Eau physiologique	Sérum à 10 %
1	0,5	0,3	2,17	0,03
3	0,5	0,3	2,11	0,09
4	0,5	0,3	2,08	0,12
5	0,5	0,3	2,05	0,15
6	0,5	0,3	2,02	0,18
7	0,5	0,3	1,99	0,21
8	0,5	0,3	1,96	0,24
9	0,5	0,3	1,93	0,27
10	0,5	0,3	1,90	0,30
11	0,5	0,3	1,87	0,33
12	0,5	0,3	1,84	0,36
13	0,5	0,3	1,81	0,39
16	0,5	0,3	1,70	0,50
25	0,5	0,3	1,45	0,75
Sans hémolyt.	0,5	0,0	1,5	1
Sans alexine	0,5	0,3	2,2	0,0
Tém. spectral	0,5	0,0	2,5	0,0

geant reste incolore. Les globules ainsi préparées sont conservées, après usage, à la glacière. On peut les garder environ une ou deux semaines. Il est prudent de les relaver de temps

à autre, surtout si l'on constate un certain degré d'hémolyse dans le tube sans alexine.

3° Mettre 20 cc. d'eau distillée physiologique dans un récipient, ajouter 0 cc. 6 de globules de mouton (on aura le soin d'agiter les globules de mouton avant d'en aspirer dans la pipette). Bien agiter le mélange.

4° Préparation du témoin spectral :

Prendre 0 cc. 5 de la solution de globules.

2 cc. 5 d'eau distillée non physiologique.

Les mettre dans un tube à hémolyse. Bien agiter et examiner au spectrophotomètre pour vérifier que la concentration en hémoglobine des globules de mouton reste constante.

Ce témoin spectral servira de solution étalon pour le colorimètre. Si l'on ne dispose pas de spectro-photomètre.

5° Mettre dans chaque tube à hémolyse 0 cc. 5 de la solution de globules.

6° Sérum hémolytique anti-mouton.

Prendre 0 cc. 5 de sérum hémolytique (on évitera de mettre la pipette au fond du récipient contenant le sérum. Il y a souvent un dépôt qu'il faut éviter de mobiliser). Les diluer dans 4 cc. 5 d'eau distillée physiologique; bien agiter.

Mettre 0 cc. 3 de ce mélange dans tous les tubes sauf un (tube sans hémolytique).

7° Ajouter de l'eau distillée physiologique en quantités diverses, suivant ce qui est inscrit au tableau de la page .

8° Mélanger en retournant trois fois les tubes. Le tube sera bouché avec le doigt, on essuyera son doigt quand on passera d'un tube à l'autre et l'on fera en sorte que ce ne soit pas le même doigt ou la même région du doigt qui bouche le tube suivant. On commence de préférence par les tubes remplis les premiers.

9° Attendre dix minutes avant de continuer le remplissage des tubes à hémolyse.

10° Préparation de l'alexine.

Avec une pipette bien propre et bien sèche, prendre 0 cc. 5

du sérum du malade. Les diluer dans 4 cc. 5 d'eau distillée physiologique et les répartir dans les tubes, suivant les proportions inscrites au tableau.

11° Retourner les tubes avec les mêmes précautions que précédemment.

12° Mettre une demi-heure à l'étuve à 37°.

13° Mettre quelques instants à la glacière et centrifuger sans perdre l'ordre des tubes.

14° Faire la lecture au colorimètre ou au spectro-photomètre, après la centrifugation. Si la lecture ne peut être faite immédiatement, remettre les tubes à la glacière jusqu'au moment favorable.

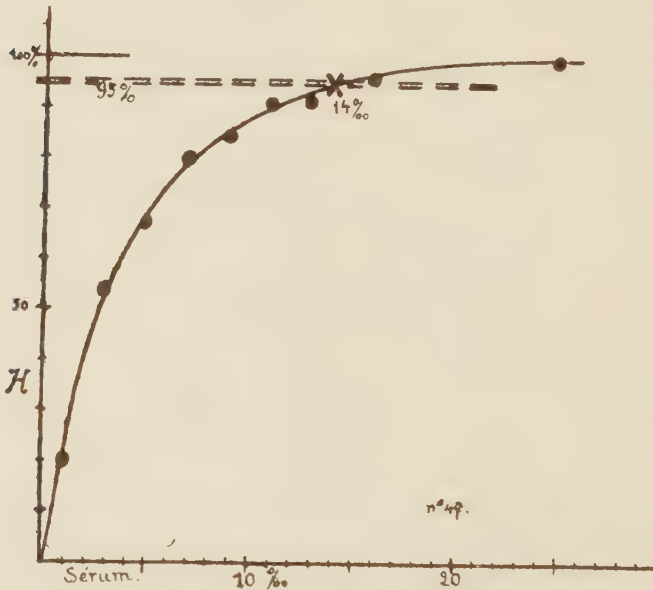


FIG. 13.

15° La lecture étant faite on appliquera pour chaque solution les formules :

$$C' = C \frac{l_2}{l_1}$$

En ordonnées, on portera les chiffres obtenus qui représentent le pour cent d'hémolyse, en abscisses seront portées les concentrations du sérum alexique. Le pouvoir alexique sera donné comme nous l'avons déjà écrit, par l'inverse de la concentration du sérum, qui dans les conditions données produit 95 % d'hémolyse.

Supposons par exemple, que ce soit la concentration 6 ‰ qui produise 95 % d'hémolyse, le pouvoir alexique sera :

$$PA = \frac{1000}{6} = 166$$

Ce chiffre sera porté dans la formule citée plus haut, et les calculs effectués le résultat donnera le point iso-électrique α à une demi-unité près.

CHAPITRE III

LES VARIATIONS DU POINT ISO-ELECTRIQUE DES PROTIDES DU SERUM AU COURS DE LA GROSSESSE NORMALE

SOMMAIRE

- § I. — Aperçu de quelques caractéristiques du sérum de femmes enceintes. — Vitesse de sédimentation globulaire et grossesse.
§ II. — Mémoire de VLÈS et de COULON, relatif aux variations du point iso-électrique des protides du sérum au cours de la grossesse normale. § III. Recherches personnelles sur le même sujet. — Conclusion.

Les modifications apportées au sang par l'état de gravidité ont été étudiées par de nombreux auteurs. BROcq-ROUSSEU, dans son important ouvrage sur les propriétés physiques du sérum normal a groupé leurs conclusions générales ; nous les résumerons dans un premier paragraphe, en insistant particulièrement sur la vitesse de sédimentation des globules rouges.

Avant de citer nos recherches personnelles sur les variations du point iso-électrique des protides au cours de la grossesse normale, nous consacrerons un deuxième paragraphe aux travaux antérieurs de VLÈS et de COULON sur ce même sujet ; ces travaux ont servi de fil directeur à nos recherches et nous n'avons eu qu'à retrouver avec des techniques perfectionnées par l'Institut de Physique Biologique, dans les années suivantes, les grandes lignes et la plupart des points acquis en

1925-1926. Quelques petites différences de détail appellerons des recherches complémentaires que nous ne manquerons pas de faire dans la suite.

PARAGRAPHE I

Quelques caractéristiques du sérum des femmes enceintes

BECQUEREL et RODIER ont noté une diminution de la densité très sensible pour le sang (1.031 au lieu de 1.058), beaucoup moins marquée pour le sérum (1.025 au lieu de 1.028).

FARKAS et SCIPIADES étudièrent les variations de pression osmotique des protéines du sérum. Le point de congélation s'élève de 0°02. Il redevient normal aussitôt après l'accouchement.

avant la grossesse : 0°560 ;

pendant la grossesse : 0°541 ;

avant l'accouchement : 0°540 ;

après l'accouchement : 0°563.

La conductivité subit une élévation assez considérable (Novoa Santos et Arizon gende), d'autant plus frappante que c'est un des rares cas où la conductivité change. Tous les auteurs, à part FARKAS et SCIPIADES sont en effet d'accord pour reconnaître qu'à l'état physiologique, elle reste à peu près constante.

La tension superficielle, d'après LEDERER, décroît pendant la grossesse, elle atteint son minimum à la délivrance et revient ensuite à la normale. ENFINGER a constaté chez 50 gestantes en bonne santé et 150 femmes à la veille de l'accouchement un abaissement de 3,9 pour 100 de la tension. Le chiffre normal est de nouveau atteint le 8^e jour après les couches (FUHRMANN et KISCH).

A. CHEVALLIER et J. GAUCHERAND ont trouvé une viscosité très élevée, qui pour eux ne serait pas due à l'augmentation du taux des protéines, mais à une cause inconnue. De 1,9 qui représente une valeur moyenne pour un sérum normal, la viscosité passe à 2,13 dans les six premiers mois et 2,11 dans les trois derniers mois. TOSHIE IVATSU, tout en observant des variations dans le même sens, ne trouve pas des chiffres aussi élevés.

L'indice de réfraction (ALBANO) baisse régulièrement jusqu'à la fin de la gestation, sans que l'âge de la femme ou les gestations antérieures ne paraissent avoir d'influence sur le phénomène. Le taux d'albumine remonte sitôt après l'accouchement. Les conclusions de cet auteur, confirmées par BEYMANN, ne sont pas admises

par VON BARCO, qui aurait trouvé au contraire une augmentation de la teneur en albumine chez les gestantes. S. MAZZA a trouvé l'un et l'autre cas dans 50 % des examens faits sur ce sujet.

TRAPL retrouve l'augmentation de l'effet Tyndall dans le sérum des femmes enceintes et récemment accouchées. La modification est d'autant plus grande que le sang est prélevé plus tôt après l'accouchement. Le phénomène est maximum lorsqu'il y a des crises d'éclampsie. Aussi conclut-il à des modifications notables de l'état colloïdal au moment de l'accouchement.

BREDA a constaté une augmentation très marquée de la bilirubine qui de 0 milligr. 3 pour 100, passe à 0,5 et même jusqu'à 1 milligr. 1 pour 100. Cette élévation persiste pendant quelques jours après l'accouchement dans 20 % des cas.

La stabilité du sérum de femmes enceintes décroît lentement, mais constamment au cours de la grossesse, pour être minimum dans les premiers jours qui suivent l'accouchement. MIZZA, qui l'a étudiée, attribue cette variation à des échanges plus actifs des tissus pendant la gestation et à la résorption des produits d'autolyse après les couches.

Une propriété physique du sang des femmes enceintes a surtout attiré l'attention pendant ces dernières années : Les rapports entre la vitesse de sédimentation des globules rouges et les différentes périodes de la grossesse normale.

Vitesse de sédimentation et grossesse

La question de l'accélération de la sédimentation du sang gravide est des plus intéressantes. En 1916, FAHRAEUS a trouvé que les globules rouges se sédimentaient plus vite chez la femme enceinte que chez la femme non-enceinte, et il a pu prouver que cette accélération était un symptôme constant chez la femme enceinte.

LINZENMEIER a pratiqué des examens chez 300 femmes enceintes. A l'opposé de WESTERGREN, il exprime la vitesse de sédimentation en minutes. C'est pour lui *le temps mis par la surface de séparation pour franchir 18 millimètres*. Chez la femme normale, ce temps est égal en moyenne à 300 minutes. Chez la femme enceinte il estime qu'on ne peut affirmer qu'il y ait une accélération nette et régulière de la vitesse de sédimentation pendant le premier et le deuxième mois.

A partir du 3^e mois, la sédimentation s'accélère dans la majorité des cas. On trouve une durée variant entre 60 et 120 minutes (souvent supérieure à 120, jamais inférieure à 60).

Le symptôme est net à partir du 4^e mois et s'accroît jusqu'à l'accouchement. Pendant les 4^e, 5^e et 6^e mois de la gestation, les

temps restent presque toujours inférieurs à 120 minutes (il y a encore de rares exceptions où le temps dépasse 120).

Du 7^e au 10^e mois, le temps de sédimentation descend à 50 minutes; jamais il ne dépasse 120; plus on approche du terme et plus nombreux sont les cas avec des temps plus courts.

Au moment de l'accouchement, LINZENMEIER trouve des temps de sédimentation de 10 à 30 minutes. Cette valeur persiste pendant les huit premiers jours du post-partum, pour revenir dans les semaines suivantes, à la normale.

VIGNES, dans une communication à la Société de Biologie (octobre 1922), montre que cette vitesse de sédimentation presque nulle au début, devient d'autant plus marquée que la gestation est plus avancée. Ce fait lui suggère l'existence d'un rapport entre l'intensité de la sédimentation et l'intensité de la spoliation de substances nutritives, exercée par le fœtus au dépens de la mère. La disparition de la réaction dans le post-partum ou le post-abortum, se fait proportionnellement au temps écoulé, mais avec des variations qui n'ont pas encore été interprétées.

BELA FALTA note lui aussi une grande accélération de la vitesse de sédimentation en cas de grossesse gémellaire et en cas de menace d'avortement.

HIRSCH établit en 1926, par une micro-méthode, les valeurs en millimètres, correspondant aux différentes périodes de la gestation. Voici le tableau où il résumait par une courbe les résultats de 85 cas.



FIG. 14. — Valeur de la sédimentation globulaire chez des femmes à différents mois de la gestation (HIRSCH).

MARIA ARCERI en 1927, signale une très grande accélération de la vitesse de sédimentation en cas de vomissements de la grossesse; LINZENMEIER signalait toutefois le phénomène contraire dans les mêmes cas, « Dans les toxémies gravidiques, dit-il, on ne trouve pas des temps typiques. Dans l'éclampsie gravidique, on trouve souvent une sédimentation plus lente que chez les femmes enceintes normales; au cours des vomissements gravidiques répétés, on trouve également un ralentissement de la sédimentation. Ces modifications sont probablement dues à une polyglobulie ».

— Dans les expériences chez les animaux gravides (lapins et cobayes), LINZENMEIER affirme qu'il n'y a pas de modification de la vitesse de sédimentation.

L'étude physico-chimique des problèmes posés par la sédimentation globulaire allaient amener plusieurs auteurs à chercher les rapports possibles entre celle-ci et les points iso-électriques du sérum humain. Aussi importe-t-il d'abord de bien délimiter l'étendue des variations des points iso-électriques dans le sérum des femmes enceintes. Cette délimitation, VLÈS et DE COULON, l'avait déjà fixée, au cours d'une étude générale sur les variations physiologiques et pathologiques du point iso-électrique dans le sérum humain.

PARAGRAPHE II

Recherches de Vlès et de Coulon sur les variations des points iso-électriques dans le sérum des femmes enceintes

VLÈS et DE COULON, résumant, en 1926, leurs recherches sur ce sujet, écrivaient :

« Si l'on considère l'évolution des points iso-électriques pendant la grossesse, la première caractéristique est l'irrégularité des positions du point α , qui peut se placer entre 5,5 et 7,5 (et même 8 ou 8,5) et quelquefois même manquer ; α oscille, et sort donc des zones de la femme normale, soit par en-dessous (comme chez les jeunes filles), soit par en-dessus (comme dans les affections aiguës). Par contre, les points γ ,

Variation des points α et γ au cours de la grossesse normale.
(Courbe construite d'après les résultats de VLÈS et de COULON)

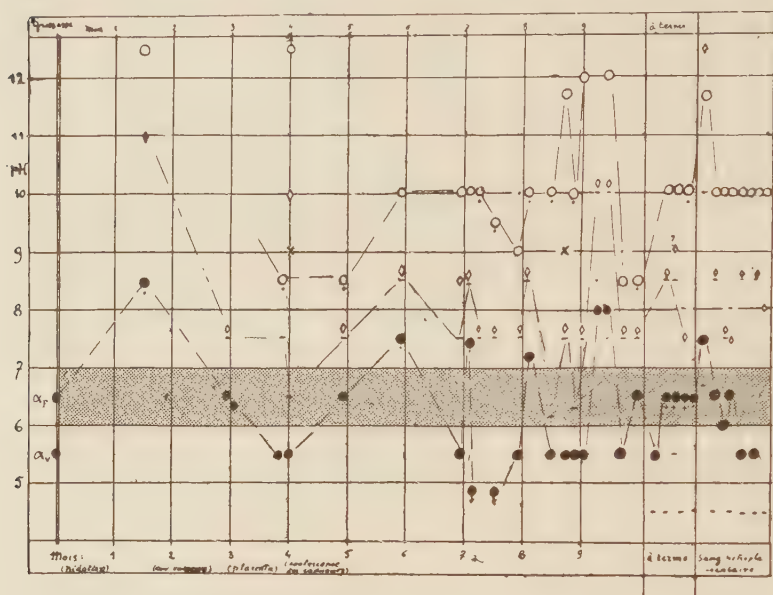


FIG. 15. — α_f point α des femmes enceintes. γ point γ . Abcisses : mois de la grossesse ; dernière colonne ; sang rétroplacentaire.

qui sont une rareté chez les femmes normales, sont ici présents presque dans tous les cas, à partir surtout du 4^e mois, ils sont très bas entre 8 et 12 et aussi irréguliers que les points α . Les zones de ces deux points s'intriquent au point qu'il est quelquefois difficile de distinguer la nature d'un point iso-électrique, quand la série n'est pas complète, quand on a, par exemple, un point α présent et le point γ du même sérum absent. L'examen des pH de précipités et des points neutres de flocons et précipités, permet de se guider en cas d'incertitudes, ces divers points ont des rapports sinon constants, du moins habituels, avec les points α et γ des flocons, et permettent de délimiter des zones décalées. »

« D'autre part, les irrégularités des oscillations semblent disparaître au moment du terme, où les points se fixent exactement à 6,5 et à 10. Précédant cette phase, on remarque au milieu du 9^e mois une ascension de α avec montée de γ .

Par conséquent, les caractéristiques du sérum de femmes enceintes sont donc :

1° des oscillations irrégulières grossièrement corrélatives de α et de γ .

2° La présence presque constante de γ .

3° La fixité au moment du terme avec chute ensuite : sang retro-placentaire.

« Il semblerait, d'après les oscillations de α et γ se différencier plusieurs cycles dans l'évolution des points iso-électriques : le premier allant jusqu'au 4° mois, avec maximum d' α au 2° mois ; le second du 4° au 7° mois, avec maximum vers 6 mois. Le troisième à partir du 7° mois, comprenant les grandes oscillations et la fixation finale dans la position du terme » (VLÈS et DE COULON, *A.P.B.*, novembre 1926) (fig. 15).

PARAGRAPHE III

Recherches personnelles

Nous avons repris ces travaux de notre Maître VLÈS, d'abord sous sa propre direction à l'Institut de Physique Biologique de Strasbourg. Nous les avons continué à Paris, au Laboratoire de Physiologie comparée de la Sorbonne où M. le Professeur PORTIER, de l'Académie de Médecine, avait bien voulu nous donner l'hospitalité et nous aider à réunir le matériel nécessaire à ces expériences longues et minutieuses.

Voici le résultat de nos principales cataphorèses. Pour la recherche de nos points iso-électriques, nous n'avons tenu compte que de la présence des flocons. De plus, grâce aux relations établies par VLÈS, PRAGER et BERNSTEIN entre le pouvoir alexique du sérum et le pHi nous n'avons pas eu les difficultés signalées en 1926 par VLÈS et DE COULON, pour distinguer les uns des autres les différents pHi . A peu près toutes nos cataphorèses ont été contrôlées par cette recherche du pouvoir alexique. A Strasbourg, il était déterminé par spectro-

photométrie, à Paris, nous avons eu recours, comme nous l'avons déjà signalé, au colorimètre à plongeurs.

CATAPHORÈSE N° 1

Grossesse au début du 2^e mois chez une femme âgée de 32 ans.

Antécédents :

2 fausses couches.

Un enfant de onze ans ; a toujours été bien portante.

Etat actuel :

La malade a été admise à l'hôpital pour des vomissements qui ne semblent pas présenter l'apparence des « vomissements incoercibles de la grossesse ». Le B. W. n'a pas été fait.

La température est normale.

Conditions de la cataphorèse :

Milliampères, 3,1.

Différences de potentiel (Les différences de potentiel indiquées dans cette cataphorèse et les suivantes sont celles constatées aux bornes de chaque tube), de 14 à 16 volts.

Temps de passage du courant, 1 h. 30.

Résultats de la cataphorèse :

pHi α , 9,2.

pHi β , 6,2.

pN, 7,8.

Pouvoir alexique, 95 - 100.

CATAPHORÈSE N° 2

Grossesse au 3^e mois.

Antécédents :

A toujours été bien réglée et ne signale aucun antécédent pathologique.

Primigeste.

Etat actuel :

Est venue consulter à l'hôpital pour un placard eczématiforme, de la dimension d'une pièce de cinq francs, situé à la face externe du bras.

Le Wassermann et le Hecht aussitôt faits ont donné un double résultat négatif.

Température normale.

Conditions de la cataphorèse :

Milliampères, 2,5.

Différences de potentiel, de 19 à 22 volts.

Temps de passage du courant, 2 heures.

Résultats de la cataphorèse :

pHi α , 6,9.

pHi β , 3,8.

pHi γ , 9,2.

pN 5,8.

— 8.

Pouvoir alexique, 129.

CATAPHORÈSE N° 3

Grossesse au début du 4^e mois.

Antécédents :

A toujours été bien portante.

Pas de fausses couches.

Etat actuel :

Est envoyée à l'hôpital pour y suivre un traitement spécifique.
Le mari, en effet, a un Wassermann actuellement positif.

Le Wassermann et le Heicht pratiqués aussitôt sont négatifs
chez cette femme.

Hauteur utérine, 15 cm.

Bruits du cœur non perceptibles, mais la malade croit sentir
remuer le fœtus.

Température normale.

Conditions de la cataphorèse :

Milliampères, 3.

Différences de potentiel, de 22 à 25 volts.

Temps de passage du courant, 1 h. 15.

Résultats de la cataphorèse :

pHi α , 6,8.

pHi β , 4,9.

pHi γ , 8,9.

pN 3,7

— 6.

— 8,2.

CATAPHORÈSE N° 4

Grossesse au 4^e mois chez une femme âgée de 23 ans.

Antécédents :

Réglée à 15 ans.

Toujours bien réglée dans l'intervalle de ses grossesses.

A déjà eu trois enfants.

Etat actuel :

Bien portante.

Température normale.

Wassermann négatif.

Conditions de la cataphorèse :

Milliampères, 3.

Différences de potentiel, de 12 à 14 volts.

Temps de passage, 1 h. 30.

Résultats de la cataphorèse :

pHi α , 6,1.

pHi γ , 8,1.

pN, 8.

Pouvoir alexique, 150.

CATAPHORÈSE N° 5

Grossesse au 6^e mois.

Antécédents :

Femme ne présentant pas d'antécédents pathologiques.

A toujours été bien réglée.

Etat actuel :

Température normale.

Wassermann et Heitch normaux.

Conditions de la cataphorèse :

Milliampères, 3.

Différences de potentiel, de 23 à 27 volts.

Temps de passage du courant, 1 h. 15.

Résultats de la cataphorèse :

pHi α , 6,2.

pHi β , 3,9.

pN 5,2

— 9.

CATAPHORÈSE N° 6

Grossesse au 7^e mois chez une femme âgée de 17 ans.

Antécédents :

Réglée à 14 ans.

A toujours été bien réglée.

Primigeste.

Etat actuel :

La malade a été admise à l'hôpital pour pyérite.

La veille de l'examen, elle a présenté une forte élévation de température, qui n'a d'ailleurs pas persistée.

La température est normale.

Wassermann négatif.

Conditions de la cataphorèse :

Milliampères, 3.

Différences de potentiel, de 13 à 14 volts.

Temps de passage du courant, 1 h. 35.

Résultats de la cataphorèse :

pHi α , 5.

pHi β <, 3,5 (déterminé par extrapolation).

pN, 3,7.

Pouvoir alexique, 175.

CATAPHORÈSE N° 7

Grossesse au début du 8° mois.

Antécédents :

Pas de fausses couches.

A toujours été bien portante.

Etat actuel :

Température normale.

Wassermann négatif.

Conditions de la cataphorèse :

Milliampères, 3.

Différences de potentiel, de 24 à 26 volts.

Temps de passage du courant, 1 h. 15.

Résultats de la cataphorèse :

pHi α , 6,2.

Ce point a été calculé à partir du pouvoir alexique du sérum, la cataphorèse ayant donné un résultat douteux.

pN, 8.

Pouvoir alexique, 148.

CATAPHORÈSE N° 8

Grossesse à la fin du 8° mois chez une femme âgée de 27 ans.

Antécédents :

La malade est soignée depuis longtemps pour syphilis et albuminurie. Elle est actuellement traitée au novar. Son dernier Wassermann remonte à un mois et était positif (+). Elle est réglée depuis l'âge de 19 ans et ne signale aucune anomalie de ce côté.

Pas de fausses couches - premier enfant.

Etat actuel :

Température normale.

Conditions de la cataphorèse :

Milliampères, 3.

Différences de potentiel, de 13 à 14 volts.

Temps de passage du courant, 1 h. 30.

Résultats de la cataphorèse :

Le pHi α a été calculé d'après la détermination du pouvoir alexique. La cataphorèse n'a pas permis de la trouver.

pHi α , 5,2.

pHi γ , 8,1.

pHi β <, 3,5 (déterminé par extrapolation).

pN 6,8

Pouvoir alexique, 200.

CATAPHORÈSE N° 9

Grossesse au 9° mois chez une femme âgée de 21 ans.

Antécédents :

Réglée à 14 ans, n'a jamais constatée aucune anomalie de ce côté.

A eu un enfant.

Etat actuel :

Bien portante.

Wassermann négatif.

Température normale.

Conditions de la cataphorèse :

Milliampères, 3.

Différences de potentiel, de 14 à 18 volts.

Temps de passage du courant, 1 h. 30.

Résultats de la cataphorèse :

pHi α , 4,9.

pHi γ >, 9,5 (déterminé par extrapolation).

pN, 8,7.

CATAPHORÈSE N° 10

Grossesse au 9° mois.

Antécédents :

Cette femme s'exprimant en langue étrangère, nous n'avons pu recueillir aucun renseignement précis sur ses antécédents.

Etat actuel :

Bien portante.

Wassermann négatif.

Température normale.

Conditions de la cataphorèse :

Milliampères, 3,5.

Différences de potentiel, 24 à 26 volts.

Temps de passage du courant, 1 heure.

Résultats de la cataphorèse :

pHi α , 6,9.

pHi γ >, 9,5 (déterminé par extrapolation).

pHi β <, 3,5 (déterminé par extrapolation).

pN 4,3

— 8.

Le point iso-électrique α diffère sensiblement des autres pHi se rapportant à des périodes de grossesse identique. Les antécédents de la malade, si nous avions pu les obtenir auraient peut-être fournis l'explication de cette irrégularité apparente. Peut-être répond-elle à l'ascension du point α constatée par VLÈS au milieu du 9^e mois.

CATAPHORÈSE N° 11

Grossesse à terme chez une femme âgée de 17 ans.

Antécédents :

Primipare.

Premières règles à 13 ans et demie, a toujours été bien réglée jusqu'à sa grossesse.

Etat actuel :

Bien portante.

Wassermann négatif.

Température normale.

Conditions de la cataphorèse :

Certaines conditions n'ont pas été observées. La malade n'était pas à jeun, elle avait déjeuné 3 heures et demie auparavant. De plus, le sang n'a pu être immédiatement mis à l'étuve.

Milliampères, 3.

Différences de potentiel, de 11 à 12 volts.

Temps de passage du courant, 1 h. 30.

Résultats de la cataphorèse :

pHi α , 5,4.

pHi γ >, 9,5 (déterminé par extrapolation).

pN, 7,1.

Pouvoir alexique, 210.

CATAPHORÈSE N° 12

Grossesse à terme chez une femme âgée de 27 ans. Le prélèvement du sang a été fait pendant l'accouchement.

Antécédents :

Père mort de tuberculose pulmonaire. Cette femme a d'ailleurs présenté une pleurésie séro-fibrineuse bilatérale à l'âge de 21 ans. Elle a eu deux enfants.

Etat actuel :

Accouchement laborieux à cause d'un bassin rétréci.

Pas de température.

Wassermann négatif.

Conditions de la cataphorèse :

Milliampères, 2,9.

Différences de potentiel, de 11 à 14 volts.

Temps de passage du courant, 1 h. 30.

Résultats de la cataphorèse :

pHi α , 6,2.

pHi γ , 7,8.

pHi β <, 3,5 (déterminé par extrapolation).

pN 3,9.

— 8,9.

Pouvoir alexique, 147.

De la comparaison de nos résultats (fig. 16), avec ceux publiés par VLÈS et DE COULON en 1926, nous tirerons les points de similitude suivants :

1° Oscillation du point α qui quitte la zone habituelle à la femme non gravide.

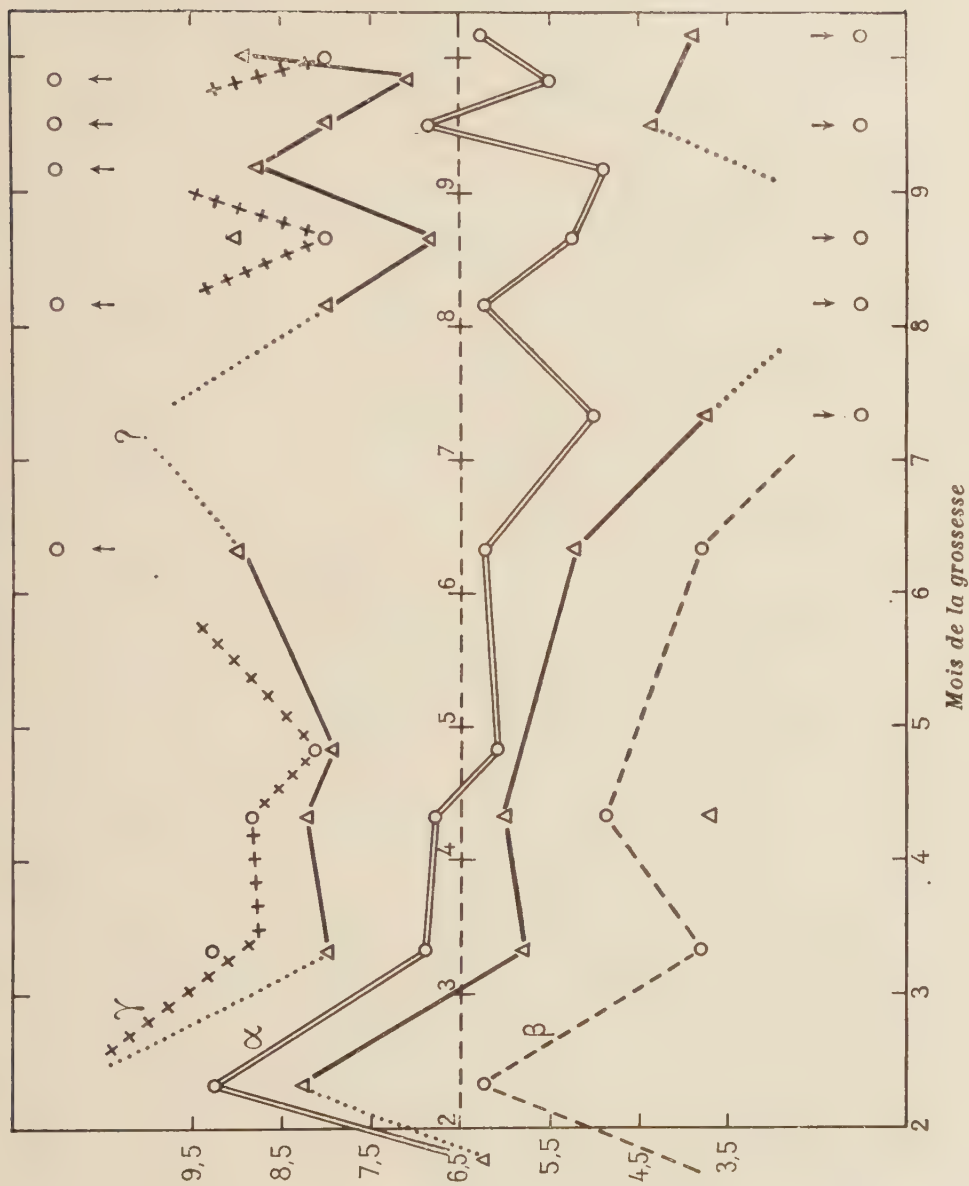
— ascension très nette vers les pH élevés pendant les trois premiers mois de la grossesse; maxima le deuxième mois; à la fin du troisième mois, le point α se rapproche de la valeur normale qu'il atteint pendant le quatrième mois.

— Déplacement vers les bas pH aux autres périodes.

2° Présence du point γ que nous avons retrouvé à toutes nos cataphorèses, sauf une.

— Comme nous avons employé une échelle de pH allant de pH 3,5 à pH 9,5, nous avons dû, à plusieurs reprises, déterminer ce point γ par extrapolation. Nous ne l'avons

Fig. 16. — Variations des points iso-électriques des protides au cours de la grossesse normale.



trouvé directement que dans les 2°, 3°, 4°, 8° et 9° mois. A ces périodes il se situait entre pH 8 et pH 9.

3° Acheminement vers la normale, avec des oscillations au moment du terme.

4° Corrélation relative entre les oscillations de α et celles de γ , ainsi qu'entre les différents points neutres.

Notre courbe étant établie avec une échelle de pH débutant plus bas que celle de VLÈS et DE COULON, nous permet d'apercevoir qu'il y a, également, une corrélation relative entre les points β et les points α .

En effet, ceux-ci peuvent être déterminés directement par lecture de la cataphorèse dans les premiers mois de la grossesse, au moment où le point α s'est acheminé vers les forts pH.

Ils sont déterminés par extrapolation, mais sont toujours présents, sauf 3 fois dans les derniers mois de la grossesse, alors que le point α descend vers les bas pH.

Un regard d'ensemble sur notre courbe montrerait une différence avec celle de VLÈS et DE COULON, différence qui n'est peut-être due qu'aux conditions d'établissement de la courbe (la nôtre est construite avec relativement peu de cas, si on la compare à la précédente. Mais les points α sont confirmés par le pouvoir alexique, technique introduite postérieurement au mémoire de VLÈS et DE COULON).

Nous distinguerions seulement deux cycles au lieu de trois. Le premier englobant les trois premiers mois de la grossesse, période pendant laquelle le point α ne se trouve pas à pH 6,5, mais se trouve déplacé vers les forts pH. Le second comprenant les mois suivants pendant lesquels le point α se trouve situé au-dessous de la valeur normale vers laquelle il se dirige au moment du terme.

Des expériences plus nombreuses seront entreprises pour compléter cette courbe.

Concurremment à ces recherches sur le sérum des femmes enceintes, entreprises dans les services de MM. les Professeurs VIGNES, de Paris, et REEB de Strasbourg, nous avons poursuivi des recherches sur le sérum de chienne dans le laboratoire de physiologie de la Faculté de Médecine de Paris, sous la direction de M. le Professeur L. BINET.

Le hasard n'a pas permis que nous puissions observer les variations de point iso-électrique des protéides sur une chienne pleine. Nous avons eu toutefois l'occasion de faire des cataphorèses du sérum d'une chienne qui avait mis bas deux jours auparavant. Nous avons trouvé un point iso-électrique à pH 5, nous n'avons relevé aucun point neutre, ni aucun autre point iso-électrique, même déterminés par extrapolation.

Quelques jours après, une cataphorèse faite sur la même chienne donnait un pHi aux alentours de pH 4 avec un point neutre à pH 9.

Une dizaine de jours après, le sérum de la même chienne donnait un pHi à 5,5 et deux points neutres à 4 et à 7.

Nous ne signalons ce dernier examen qu'en passant. Le sérum de la chienne ce jour-là et aux cataphorèses suivantes, se présentait avec un aspect trouble et opalescent dû, sans doute, à un repas riche en graisses.

Aussi n'avons-nous pas tenu compte des résultats obtenus.

MICHAELIS et TAKOUCHI NA KASHYMA, en étudiant la sérumalbumine du chien avait déjà donné comme pHi probable 4,66, mais il s'agissait de la sérumalbumine à l'état isolé. Les points iso-électriques du sérum de chien normal ne semblent d'ailleurs pas être identiques à ceux du sérum humain (VLÈS).

CONCLUSIONS

Nous avons résumé dans un premier chapitre les propriétés principales des protides. L'une surtout a retenu notre attention, leur qualité d'ampholytes, présentant des fonctions acides, des fonctions basiques et surtout une zone neutre, appelée *point iso-électrique*.

Après avoir défini celui-ci, nous avons montré les applications de cette notion en biologie. Nous avons vu quels points iso-électriques VLÈS et DE COULON avaient déterminés chez l'individu normal et pathologique, en insistant sur l'orientation nouvelle qu'ils avaient ainsi donnés à la thérapeutique du cancer.

Un deuxième chapitre nous a permis de grouper les techniques relatives à la détermination du point iso-électrique, manipulations relatives à la fabrication et à l'usage de la pile à hydrogène, de la pile à antimoine; préparation et exécution d'une cataphorèse; détermination du pouvoir alexique du sérum, moyen pratique de contrôler ou de déterminer les points douteux d'une cataphorèse.

Enfin, dans un troisième chapitre, après avoir rappelé les travaux de VLÈS et DE COULON sur les variations du point iso-électrique des protides au cours de la grossesse normale, nous avons relaté nos travaux personnels sur le même sujet. Nous

avons vu qu'un déplacement vers les forts pH de tous les points isoélectriques et des points neutres, accompagnait les trois premiers mois de la grossesse, puis qu'une chute progressive se produisait dans les cinq mois suivants pour aboutir vers la valeur normale au neuvième mois et à l'accouchement.

Vu :

LE DOYEN,
ROUSSY.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
Léon BINET.

Vu et permis de l'Académie :

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE,
S. CHARLETY.

BIBLIOGRAPHIE

Nous avons faits de larges emprunts à la Collection des « *Archives de Physique Biologique* » (Vigot Frères, éditeurs). Nous citerons particulièrement : *Archives de Physique Biologique*, année 1929, 5, fasc. suppl. et même revue : année 1933, décembre, t. XI, n° 1, VLÈS et DE COULON, *Dix ans de recherches relatives à une physico-chimie du cancer*. Ces deux numéros contiennent en fin de chapitre, toute la bibliographie des travaux relatifs à la question du point iso-électrique des protides du sérum, parus dans les années antérieures.

G. ACHARD. — Contribution à l'étude des propriétés physiques des suspensions d'hématies (*A.P.B.* IX, fasc. suppl. 5).

ALVANO. — Contributo allo studio della concentrazione protéica del siero di sangue nello stato puerperale (*Rev. ital. di ginecol.*, 1924, t. 3, p. 35).

AMBARD et SCHMID. — Variations des points iso-électriques des albumines en rapport avec les symptômes morbides généraux (*Bull. et Mém. de la Soc. méd. des Hôp. de Paris*, mars-avril 1928).

BALACHOWSKI et TOURBABA. — De l'influence des excitations externes sur l'indice de réfraction du sérum (*Journ. Biol. Méd. exp.*, mars 1927, en russe). Neber du Wirkung von äusseren Reizen auf den Brechungsindex des Blutserums (*Biochem Zeitsch.*, t. 182, p. 233).

BECQUEREL et RODIER. — Recherches sur la composition du sang dans l'état de santé (*Traité de chimie pathologique*. Paris, 1845).

BELA FALTA. — (*Zentralblatt für gynakologie*, juillet 1924).

BERGH (H. VAN DEN). — Recherche de la bilirubine dans le plasma sanguin (*Presse Médicale*, 4 juin 1921).

BERNARD. — Recherches sur les perturbations physico-chimiques du sérum sanguin dans le choc opératoire (Thèse Strasbourg, 1934).

- BERNSTEIN. — Les données actuelles sur le liquide céphalo-rachidien. Revue des caractéristiques cliniques et chimiques, recherches sur quelques propriétés physico-chimiques et sérologiques (Thèse Strasbourg).
- Remarques sur la cataphorèse et sur quelques propriétés sérologiques des liquides céphalo-rachidiens. (*C.R. soc. Biol.* 1933, t. CXIV, p. 32, Strasbourg).
- Notes sur les points iso-électriques du sérum dans les périodes successives de la Tuberculose (*C.R. soc. Biol.*, t. CXV, p. 401, 12 janvier 1934).
- BREDA. — Ein Beitrag zu deren genese und Vertung z geburtsh, 1920, t. XXXII.
- BROcq-ROUSSEU. — Le sérum normal (Masson, éd.).
- BRÖNSTED. — Einige Bemerkungen über den Begriff der Säuren und Basen (*Recueil trav. chim.*, Pays-Bas, 1923, 42-718).
- CHEVALLIER et GAUCHERENT. — Recherches sur l'indice de réfraction et la viscosité du sérum sanguin au cours de la gestation (*C.R. Soc. de Biol.*, 1930, t. CIV, p. 193).
- CORDUA. — (*Zentralbe Gynäkol*, 1928, t. LII, p. 1130).
- EUFINGER. — (*Monat schef f geburts ch. v. gynäkol*, 1928, t. LXXIX, p. 271).
- FARKAS et SCIPIADES. — Studien uber den Kolloïdosmotischen Drück des serums (*Zeitschr X d. ges. exper. med.*, 1926, t. LIII, p. 666).
- (*Pflüger's Arch.*, 1903, t. IIC, p. 577).
- FURHMANN und KISH. — (*Zeitschr f. d. ges. exp. med.*, 1921, t. XXIV, p. 84-95).
- GEX. — Les variations du coefficient tampon des solutions de sérum humain en fonction du pH (*C.R. Soc. Biol.*, 1927, t. XLVII, p. 1564).
- Propriétés physico-chimiques de la silice colloïdale (*Bull. Soc. Chim. de France*, avril 1928).
- Revue des techniques de l'électrode d'antimoine en différentiel pour la mesure du pH (*A.P.B.*, août 1931, t. CIX, N° 12).
- Remarques sur les courbes de neutralisation des systèmes biologiques et en particulier des sérums (*C.R. des séances de l'acad. des sc.*, 18 janvier 1932).
- HOUOT. — Sur quelques propriétés physico-chimique du sang des indochinois (*C.R. soc. biol.*, 1931, p. 1066).
- HUYBRECHTS. — Le pH et sa mesure, les potentiels d'oxydo-réduction. Le rH.
- LEDERER. — (*Klinische wochenschr.*, 1925, t. II, p. 1472).

- LEWINCKI. — Modification des propriétés du sérum chez la femme, comme conséquence du coït (*C.R. soc. biol.*, 1923-1931, p. 89).
- LINZENMEYER. — (*Arch. gynäk.*, 1920, p. 608, N° 113).
- (*Arch. f. die gesamt. Physiolog.*, t. CLXXXI, 1920, p. 169-183).
- LINZENMEIER et Th. HIRSCH. — Berichte über die Ges. gynund geburtsh, t. X, p. 9-10; 429-524, 1926).
- LOEB. — Les Protéines (Traduction Mouton. Félix alcan éd.).
- LUCHSINGER. — Die isoélectrischen Punkte des Blutes mit spezieller oerücksichtigung ihres verhaltens in der syphilis (*Zeitschr. gesamte exp. méd.*, 1927, t. LIX, p. XXXIV).
- LUDDY (John J.). — Recherches sur l'action des rayons X sur les points iso-électriques du sérum et la vitesse de sédimentation des globules rouges (Thèse Lausanne, 1927).
- LOPO et HERCULANO DE CARVALHO. — Points iso-électriques dans le sérum sanguin des tuberculeux pulmonaires (*C.R. soc. de biol.*, 1933, t. CXIV, p. 843).
- C. MANZINI. — Etude de quelques propriétés physico-chimiques des transsudats et exsudats (*A.P.B.*, t. VIII, p. 164).
- C. MANZINI. — La vitesse de sédimentation du sang étudiée au néphélémètre. Importance de l'hémo-agglutination et de la formation des amas de globules rouges dans la vitesse de sédimentation des hématies (*A.P.B.*, t. IX, N° 2, 1931).
- MARIA ARCERI. — (*La clinica ostetrica*, juillet 1927).
- MAZZA et IRACTA. — L'index réfractométrique du sérum des femmes enceintes et sa variation pendant la crise hémoclasique (*C.R. soc. de biol.*, Buenos-Ayres, 22 juillet 1922).
- MICHAELIS. — Manuel de technique de physico-chimie et spécialement de chimie des colloïdes à l'usage des médecins et biologistes (Traduction CHABANIER et LOBO-ONELL).
- NIZZA. — Labilita colloidale dei sieri di donne gravide puerpere e di neonati (*Annal. ostetr.*, 1930, t. LII).
- PAVIOT, FLORENCE, JARRICOT. — Le pHi du sérum dans les cellulies (*Journal de médecine de Lyon*, 20 janvier 1934, p. 65).
- ROSSIER. — Des déplacements des points iso-électriques du sérum dans les maladies infectieuses aiguës (*A.P.B.*, t. VI, p. 2).
- Introduction à l'étude des pHi du sang (*Ann. Méd.*, t. XXIII, N° 4, avril 1928).
- Comparaison entre les points iso-électriques du sérum et du plasma humain (*A.P.B.*, novembre 1926).
- Des déplacements des points iso-électriques du plasma et variations de sédimentation des globules rouges (*A.P.B.*, novembre 1926).

- ROSSIER et LUCHSINGER. — Variations des pHi du sérum dans la syphilis (*A.P.B.*, t. VI, p. 4).
- SANNIE. — Propriétés physiques et fonctions des protéines du plasma (d'après EDWIN, J. COHN et Paul E. HOWE. *Physiological Reviews*, 1925).
- SÖRENSEN, LINDERSTRÖM-LANG et ELLEN LUND. — The influence of salt concentration on the acid binding capacity of egg-albumine (*Carlsberg*, N° 5-16, 1926).
- STEARN. — Amphoteric Behavior of complex systems (*Journ. of gen. phys.*, 1926, N°s 2 - 3).
- TADOKORO. — On the dispersity and the surface tension of blood serum (*Journ. of bioch.*, 1924, t. III).
- J. TRAPL. — Néphélémétrie des sérums humains (*Spisydekarste facul. masarykowy. Brno*, 1924, t. II, p. 153).
- Tables de pH (éditées par l'institut océanographique de Salambo (Tunis).
- VIGNES. — Vitesse de sédimentation globulaire et gynécologie (*C. R. Soc. de Biol.*, octobre 1922).
- Vitesse de sédimentation des globules rouges (Revue d'ensemble. *Progrès Médical*, 22 septembre 1934).
- VLÈS. — *Précis de chimie-physique* (Vigot, édit., 1929).
- Travaux pratiques de chimie-physique (Vigot, édit., 1927).
- VLÈS et A. DE COULON. — Quelques essais sur une action frénatrice vis-à-vis des cancers humains, de certains mélanges à base d'acides aminés (*Académie de Médecine*, 19 décembre 1933).
- VLÈS et A. GUNSETT. — Observations de trois malades en traitement par la technique VLÈS-DE COULON à base d'acides aminés (*Acad. de Médecine*, 1933).
- VLÈS, PRAGER et BERNSTEIN. — Sur les relations entre les points iso-électriques et le pouvoir alexique du sérum humain (*A. P.B.*, 1931, t. IX, N° 2, p. 134-141).
- VLÈS et VELLINGER. — Sur un modèle pratique d'électrode à hydrogène (*Bull. de la Société Chimique de France*. N° 62).
- WEIL. — Les modifications des protéines du sérum en pathologie (Thèse Strasbourg, 1930).

TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS	
CHAPITRE PREMIER. — Etude théorique du point isoélectrique des Protides	1
Les protides	1
Le point isoélectrique	6
Le point isoélectrique en biologie et en pathologie humaine	17
CHAPITRE II. — Les techniques relatives à la cataphorèse	37
Pile à hydrogène	39
Pile à électrode d'antimoine	52
Techniques relatives à la cataphorèse	70
Recherches du pouvoir alexique du sérum	82
CHAPITRE III. — Les variations du point iso-électrique des pro- tides au cours de la grossesse normale	91
Quelques caractéristiques du sérum des femmes enceintes	92
Recherches de VLÈS et de COULON sur les variations des points iso-électriques dans le sérum des femmes enceintes	95
Recherches personnelles	97
CONCLUSIONS	109
BIBLIOGRAPHIE	111

—
IMPRIMERIE SPÉCIALE
DE
MM. VIGOT Frères
—



